

# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

DOTTORATO DI RICERCA IN AGROBIOLOGIA E AGROCHIMICA – XXIV CICLO

INDIRIZZO MIGLIORAMENTO GENETICO E ORTICOLTURA



## **Analisi QTL per caratteri agronomici in popolazioni di pomodoro derivanti da incroci interspecifici**

CANDIDATO

DOTT. MARIO PARISI

*RELATORE*

CHIAR.MO PROF. LUIGI FRUSCIANTE

*COORDINATORE*

CHIAR.MO PROF. MATTEO LORITO

*CORRELATORE*

DOTT. SSA SILVANA GRANDILLO

## INDICE

<b>INTRODUZIONE.....</b>	<b>4</b>
1. Importanza economica e nutrizionale del pomodoro.....	4
2. Il miglioramento genetico del pomodoro attraverso l'uso delle specie selvatiche.....	7
3. Studio dei caratteri quantitativi in pomodoro attraverso l'uso di marcatori molecolari e delle mappe genetiche.....	11
4. “QTL mapping” in pomodoro per caratteri legati all’adattamento, alla qualità ed alla produzione.....	17
5. “Fine mapping”, clonaggio posizionale e approccio del gene candidato.....	19
6. Strategie di breeding molecolare per l’identificazione e l’uso di QTL di specie selvatiche di pomodoro.....	20
6.1 La strategia dell’ “Advanced Backcross QTL analysis”.....	21
6.2 “Exotic libraries” o popolazioni di linee di introgressione.....	23
6.2.1 Exotic libraries” disponibili in pomodoro.....	26
7. MAS e “QTL pyramiding” in pomodoro.....	29
8. Obiettivi della tesi.....	30
<b>CAPITOLO I: Analisi QTL per caratteri agronomici in linee di introgressione (IL) di <i>Solanum habrochaites</i> LA1777.....</b>	<b>32</b>
1.1 Introduzione.....	32
1.2 Materiali e metodi.....	34
1.2.1 Materiale vegetale.....	34

1.2.2	Analisi molecolare.....	34
1.2.3	Valutazione fenotipica.....	35
1.2.4	Analisi statistica dei dati.....	37
1.3	<b>Risultati.....</b>	38
1.3.1	Analisi molecolare.....	38
1.3.1.1	Analisi molecolare delle popolazioni F <sub>2</sub> derivate dalle IL e BCRIL di <i>S. habrochaites</i> LA1777.....	38
1.3.1.2	Analisi molecolare delle popolazioni di reincrocio.....	39
1.3.2	Analisi fenotipica delle IL di <i>S. habrochaites</i> LA1777.....	42
1.3.2.1	Prova condotta nel 2010.....	42
1.3.2.2	Prova condotta nel 2011.....	57
1.3.3	Numero e posizione dei QTL identificati per ciascun carattere.....	75
1.3.3.1	Prova condotta nel 2010.....	75
1.3.3.2	Prova condotta nel 2011.....	85
1.4	<b>Discussione.....</b>	93
1.4.1	Numero e posizione dei QTL identificati nell'anno 2010 nelle IL di <i>S. habrochaites</i> LA1777.....	93
1.4.2	Numero e posizione dei QTL identificati nell'anno 2011 nelle IL di <i>S. habrochaites</i> LA1777.....	104

**CAPITOLO II: Analisi QTL per caratteri agronomici in una popolazione di AB di *S. lycopersicum* × *S. habrochaites* LA1721.....109**

2.1	<b>Introduzione.....</b>	109
2.2	<b>Materiali e metodi.....</b>	110
2.2.1	Materiale vegetale.....	110

2.2.2	Analisi molecolare della popolazione.....	110
2.2.3	Valutazione fenotipica della popolazione.....	111
2.2.4	Analisi dei dati.....	113
<b>2.3</b>	<b>Risultati.....</b>	<b>113</b>
2.3.1	Analisi di segregazione.....	113
2.3.2	Correlazioni tra caratteri.....	117
2.3.3	QTL identificati per ciascun carattere.....	118
<b>2.4</b>	<b>Discussione.....</b>	<b>126</b>
2.4.1	Analisi di segregazione.....	126
2.4.2	QTL condivisi in diverse popolazioni e specie selvatiche.....	127
2.4.3	Co-localizzazione di QTL.....	130
2.4.4	QTL conservati nelle due località.....	131
2.4.5	QTL con alleli favorevoli derivanti dalla specie selvatica.....	131
<b>CONCLUSIONI.....</b>		<b>133</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>		<b>134</b>
<b>RINGRAZIAMENTI.....</b>		<b>148</b>

# INTRODUZIONE

## 1. Importanza economica e nutrizionale del pomodoro

Il pomodoro coltivato (*Solanum lycopersicum* L.) è una delle specie ortive più diffuse a livello mondiale e il suo centro d'origine si trova in sud America, nell'area che oggi comprende Perù, Ecuador e Colombia. In queste regioni e più a sud, nel Cile settentrionale e in Bolivia, è ancora possibile ritrovare specie selvatiche del pomodoro. Gli ambienti di crescita sono estremamente differenti in termini di altitudine e condizioni pedoclimatiche: si va dalle regioni costiere, zone laviche costiere e deserti costieri (alt. 0-600 m) (rispettivamente per *S. pimpinellifolium*, *S. galapagense* e *S. peruvianum*), alle colline e altopiani rocciosi aridi (0-3000 m) (rispettivamente per *S. pennellii* e *S. chilense*), fino alle foreste pedemontane (500-3600 m) e alle valli andine aride e di alta quota (2000-3000 m) (rispettivamente per *S. neorickii* e *S. chmielewskii*) (Soressi e Mazzucato 2010). Secondo Rick (1988) la grande variabilità che può essere riscontrata nelle specie del genere *Solanum* sez. *Lycopersicon* sembra proprio derivare dall'adattamento ad habitat così diversificati.

Introdotta in Europa dagli Spagnoli, agli albori del XVI secolo, con varie denominazioni che prendevano origine dall'azteco *tumate*, il pomodoro coltivato ben presto si diffuse in tutti i Paesi del bacino del Mediterraneo, dove per molto tempo fu considerato esclusivamente come curiosità botanica o come pianta ornamentale. Soltanto in Italia e poi nella vicina Spagna fu utilizzato per fini alimentari, soprattutto presso le popolazioni rurali (Grandillo *et al.* 2004).

Le statistiche FAO del 2009 (FAOSTAT 2009; <http://faostat.fao.org>), indicano che la superficie coltivata a pomodoro raggiunge i 4,7 milioni di ettari con una produzione totale di circa 130 milioni di tonnellate, un quantitativo che si è mantenuto pressoché stabile negli ultimi quattro anni. Allargando il periodo di riferimento all'ultimo decennio è, invece, possibile notare una considerevole crescita nei volumi raccolti pari a circa il 32%. Tale incremento, oltre ad essere diretta conseguenza delle aumentate superfici investite a pomodoro, è stato determinato da un miglioramento delle rese produttive, passate da 26 a 28 t/ha.

Il principale produttore è la Cina, con 45 milioni di tonnellate (34,7% del totale), seguita, a distanza, dagli Stati Uniti d'America, con 14 milioni di tonnellate (10,8% del totale). Nel bacino del

Mediterraneo il maggior Paese offerente è la Turchia che, con quasi 11 milioni di tonnellate annue, risulta anche il terzo produttore al mondo (Pirazzoli e Palmieri 2010). L'Italia si colloca al sesto posto per la produzione di pomodoro con circa 7 milioni di tonnellate (circa il 5,3% della produzione mondiale) su una superficie di 118.500 ettari (pari al 35% della SAU a orticole). Nel 2008 il pomodoro in pieno campo ha coperto in Italia, nel suo complesso, una superficie piuttosto contenuta rispetto al passato, pari a poco più di 108 mila ettari, di cui quasi l'82% destinato al prodotto per l'industria di trasformazione (Castellini 2010).

L'industria di trasformazione assorbe una quota decisamente rilevante della produzione mondiale di pomodoro, valutabile attorno al 24-27% annuo. Nell'ambito dei paesi del Bacino del Mediterraneo, l'Italia rappresenta il principale produttore con volumi variabili da 4,5 a 6,5 milioni di tonnellate. Nel complesso, le esportazioni mondiali di derivati del pomodoro nel 2008 hanno assommato un valore di circa 5,6 miliardi di dollari, con metà del mercato controllato da Italia e Cina. L'export italiano vale quasi 2 miliardi di dollari e rappresenta il 35% del totale, mentre la Cina si ferma a 850 milioni di dollari, pari ad una quota del 15%. Nell'ambito dei diversi derivati industriali, l'export italiano si basa principalmente su passate e concentrati (650.000 tonnellate), seguito dai pelati, segmento di mercato in cui l'Italia è leader assoluto delle esportazioni con una quota del 78% e un aumento del 23% nell'ultimo decennio (fonte: <http://www.tomatonews.com>).

Oltre che dal punto di vista economico, il pomodoro rappresenta un prodotto di eccellenza anche dal punto di vista nutrizionale. In particolare, la qualità e le proprietà del frutto di pomodoro sono legate al contenuto di fitonutrienti che svolgono un'azione benefica sull'organismo umano: vitamine (A, C, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, K, P, PP), carotenoidi, flavonoidi, sali minerali (K, Ca, Na, P) e fibra vegetale (Beecher 1997). Per l'elevato contenuto di vitamina C, esso è considerato la seconda fonte di questo fitonutriente dopo gli agrumi e uno degli alimenti base della dieta mediterranea, le cui azioni benefiche sono note da tempo (Kushi *et al.* 1995).

Riguardo ai carotenoidi, dei 40 ritenuti importanti per la dieta umana, un numero variabile tra 9 e 20 derivano dal consumo di pomodoro e dei suoi derivati. I più interessanti sono il licopene (fino all'80-90% del totale) ed il  $\beta$  carotene (circa il 6% del contenuto totale) che è il precursore della vitamina A. Inoltre, luteina, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina e fitoene sono contenuti in piccole quantità (Burns *et al.* 2003).

Il licopene, che è il pigmento principalmente responsabile del caratteristico colore rosso del frutto maturo, negli ultimi anni ha destato notevole interesse presso la comunità scientifica ed i consumatori, in virtù delle sue proprietà biologiche e fisico-chimiche, soprattutto per la notevole capacità antiossidante e antiradicalica che si esplica nella prevenzione di alcune forme tumorali

dell'esofago, stomaco, intestino, polmoni, pancreas e midollo osseo (Gallicchio *et al.* 2008; Ruhul Amin *et al.* 2009). Altre ricerche, inoltre, hanno evidenziato una significativa correlazione indiretta tra diete ricche di pomodoro (e suoi derivati) e basso rischio di cancro alla prostata (Giovannucci *et al.* 1995; Peters *et al.* 2007). I carotenoidi in generale hanno un effetto protettivo sulle cellule umane, agendo sia contro tutte le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sia contro il biossido di azoto (Bohm *et al.* 2001).

Nell'ambito della qualità del frutto di pomodoro, un altro aspetto importante da prendere in considerazione è quello sensoriale, che risulta legato ad una serie di fattori meccanici, chimici ed ottici che variano in funzione della maturazione del frutto. Questi includono l'aspetto (forma e colore), la struttura (determinata dal contenuto di fibre), la consistenza (determinata dallo stato di maturazione) e l'appetibilità (determinata dal contenuto di sali, zuccheri, acidi e componenti volatili) (Baldwin *et al.* 1991; Stevens *et al.* 1977; Bucheli *et al.* 1999; Causse *et al.* 2003; Sinesio *et al.* 2010).

Le componenti volatili influenzano chiaramente la percezione dell'odore e del sapore nei pomodori (Baldwin *et al.* 1998; Krumbein e Auerswald 1998) e, nonostante siano state identificate più di 400 sostanze correlate all'aroma del frutto di pomodoro (Petro-Turza 1987), di queste circa 30 sono considerate importanti per il suo sapore (Ruiz *et al.* 2005a; Buttery e Ling 1993).

Nella valutazione delle caratteristiche organolettiche del pomodoro si deve tenere conto anche degli zuccheri e degli acidi organici che influenzano il gusto. Nell'ambito della definizione delle qualità sensoriali del pomodoro fresco e trasformato, numerose ricerche hanno evidenziato non solo il contributo del corredo aromatico (Baldwin *et al.* 1991; Stevens *et al.* 1977; Buttery *et al.* 1989; McGlasson *et al.* 1987), ma anche del contenuto zuccherino e acidico (Jones *et al.* 1984; Hobson e Bedford 1989). Infatti, gli zuccheri e gli acidi organici rappresentano più della metà della sostanza secca contenuta in pomodoro andando a costituire le componenti primarie del frutto di pomodoro (Atherton e Rudich 1986). Tali sostanze contribuiscono a determinare la quantità di solidi solubili (brix), un parametro chiave per l'industria di trasformazione. La componente zuccherina è rappresentata in massima parte dal fruttosio e dal glucosio (con eventuali tracce di saccarosio), mentre gli acidi organici presenti in quantità maggiori sono principalmente l'acido citrico e l'acido malico, con la predominanza di quest'ultimo (Davies e Hobson 1981). Sia la concentrazione assoluta degli zuccheri e degli acidi organici sia il rapporto equilibrato tra di essi risultano fattori importanti ai fini dell'accettazione da parte dei consumatori (Stevens *et al.* 1977).

## 2. Il miglioramento genetico del pomodoro attraverso l'uso delle specie selvatiche

L'efficienza dei programmi di miglioramento genetico nel pomodoro, come per le altre colture, dipende dalla disponibilità di una sufficiente variabilità genetica necessaria per la costituzione di varietà con caratteristiche differenti in termini di destinazione commerciale (da industria, per il mercato del fresco o “multi-purposes”), di produttività e qualità del prodotto (forma, dimensione, colorazione, consistenza, flavour del frutto) e di adattamento ambientale (epoca di raccolta, coltura protetta o in pieno campo, resistenza a stress biotici e abiotici).

Il germoplasma del pomodoro coltivato, per il suo naturale sistema di riproduzione (autogamo) e come conseguenza della domesticazione prima e del miglioramento genetico dopo, mostra una scarsa variabilità genetica utilizzabile dai breeders. La domesticazione del pomodoro è stata particolarmente utile per la concentrazione di varianti alleliche che conferiscono caratteri agronomici di interesse. Generalmente, questo fenomeno riguarda i seguenti aspetti: perdita dei meccanismi naturali di dispersione, germinazione rapida, semi più grandi, cambio di colore nei frutti, perdita di composti tossici e che conferiscono sapore amaro, habitus compatto e maturazione contemporanea, aumento della precocità, maggiore diversità morfologica e organolettica nei frutti (Damania 2008). Tuttavia, durante questo processo di selezione, la variazione allelica è stata ridotta sia a causa della selezione negativa verso i caratteri considerati negativi e sia attraverso una perdita di fenotipi/caratteri considerati neutri al momento in cui veniva effettuata la selezione stessa (Tanksley e McCouch 1997).

All'inizio del XX secolo sono stati sviluppati, presso le istituzioni pubbliche e private, importanti programmi di *breeding* allo scopo di ottenere ibridi che combinavano caratteri utili da entrambi i parentali e che segregavano nelle progenie, con il vantaggio commerciale di scoraggiare l'autoproduzione di semi da parte degli agricoltori. Nel 1946 fu rilasciato il primo ibrido di pomodoro, denominato “Single Cross” e nei decenni successivi si è assistito ad una evoluzione negli obiettivi del breeding della solanacea, che hanno riguardato quindi: l'aumento delle rese (negli anni '70), il miglioramento della shelf-life (anni '80), del gusto (anni '90) e della qualità nutrizionale (più recentemente) (Bai e Lindhout 2007).

Con l'incremento della domanda di mercato, delle aree di coltivazione e dell'intensificazione delle produzioni, si è assistito alla progressiva richiesta di nuove cultivar dotate di resistenza a stress biotici e abiotici, a cui i *breeders* hanno risposto continuando a migliorare le loro linee attraverso nuovi incroci con il materiale già in loro possesso o della concorrenza.



Quindi, in conseguenza della domesticazione prima e del *breeding* tra varietà coltivate poi, si è verificato, di fatto, una forte riduzione della variabilità genetica, mentre una notevole ricchezza di variabilità allelica esiste ancora nel germoplasma selvatico (Ladizinsky 1998).

Il livello di erosione genetica del germoplasma di pomodoro coltivato è stato stimato utilizzando diversi tipi di marcatori, compresi allozimi (Rick e Fobes 1975) e RFLP (Helentjaris *et al.* 1985; Miller e Tanksley 1990) e nel 1990, Miller e Tanksley hanno evidenziato che la variabilità genetica nel germoplasma coltivato è spesso inferiore al 5% di quella rinvenibile in natura. Proprio in virtù della scarsa variabilità genetica, pur utilizzando marcatori molecolari molto sensibili, sono stati identificati pochissimi polimorfismi tra le cultivar di pomodoro coltivato (Villand e Skroch 1998; Park *et al.* 2004; Garcia-Martinez *et al.* 2005; Ruiz *et al.* 2005b; Primieri Carelli *et al.* 2006; Bai e Lindhout 2007; Mazzucato *et al.* 2008).

La riduzione della variabilità genetica del pomodoro coltivato può in parte spiegare gli esigui risultati prodotti dal breeding fino a circa il 1940, anno in cui viene riportato il primo caso di utilizzo delle specie selvatiche per il miglioramento di caratteri utili (Bohn e Tucker 1940).

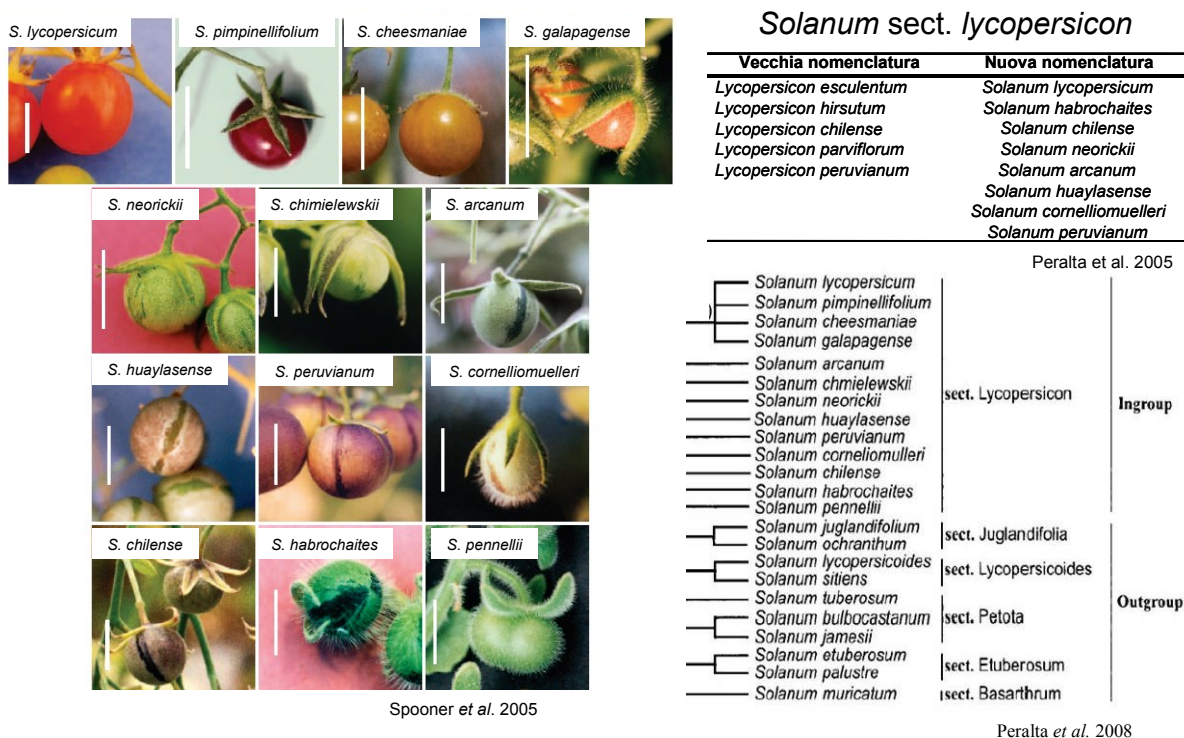
Successivamente, lo sfruttamento della variabilità genetica del germoplasma selvatico mediante incroci interspecifici, ha determinato i notevoli aumenti delle rese osservati fino ai giorni nostri (Rick 1988).

E' importante sottolineare che il pomodoro appartiene all'ampia e diversificata famiglia delle Solanaceae che comprende più di 3000 specie diffuse in habitat estremamente vari. La recente revisione tassonomica ha reintegrato il genere *Lycopersicon* nel genere *Solanum*, con una revisione della nomenclatura (Peralta and Spooner 2001; Spooner *et al.* 2005; Peralta *et al.* 2008). Cinque dei più importanti tassonomisti, così come la maggior parte degli studiosi di miglioramento genetico, hanno accettato la reintegrazione di 6 specie nel genere *Solanum* (Caicedo e Schaal 2004; Fridman *et al.* 2004; Schauer *et al.* 2005; Mueller *et al.* 2009; <http://tgrc.ucdavis.edu/key.html>).

Peralta *et al.* (2008) hanno trattato le 13 specie appartenenti alla sezione *Lycopersicum* del gen. *Solanum*, insieme alle quattro specie strettamente correlate (*S. juglandifolium*, *S. lycopersicoides*, *S. ochranthum*, *S. sitiens*), nella serie tassonomica "Systematic Botany Monographs".

La sezione *Lycopersicon* del genere *Solanum* consiste di 13 specie o sotto-specie: il pomodoro coltivato, *Solanum lycopersicum*, che è l'unica specie domesticata, e 12 specie selvatiche (*Solanum arcanum*, *S. cheesmaniae*, *S. chilense*, *S. chmielewskii*, *S. corneliomulleri*, *S. galapagense*, *S. habrochaites*, *S. huaylasense*, *S. neorickii*, *S. pennellii*, *S. peruvianum* e *S.*

*pimpinellifolium*) (Peralta *et al.* 2005; Spooner *et al.* 2005). Quattro di queste, sono derivate dalla specie a frutto verde *S. peruvianum sensu lato (s.l.)*: due di esse, *S. arcanum* e *S. huaylasense*, sono state descritte come nuove specie (Peralta *et al.* 2005) mentre, le altre due, *S. peruvianum* e *S. corneliomulleri*, erano già state nominate da Linnaeus (1753) e MacBride (1962), rispettivamente. Inoltre, *S. galapagense*, una delle specie a frutto giallo-arancione, è derivata da *S. cheesmaniae*; entrambe le specie sono originarie delle isole Galapagos (Darwin *et al.* 2003) (Fig. 1).



**Fig. 1.** Le specie selvatiche del genere *Solanum* secondo la nuova nomenclatura proposta da Spooner *et al.* 2005 e Peralta *et al.* 2005.

Tutte le specie appartenenti alla sezione *Lycopersicon* presentano corredo cromosomico diploide ( $2n=2x=24$ ) (Peralta e Spooner 2001; Nesbitt e Tanksley 2002), un alto grado di sintenia (Chetelat e Ji 2007) e producono fiori ermafroditi. Nel loro ambito è noto un “range” molto vario di sistemi di fecondazione, dall’autogamia di *S. cheesmaniae* e *S. neorickii* all’interincrocio obbligato di biotipi autoincompatibili di *S. chilense*, *S. habrochaites*, *S. peruvianum* e *S. pennellii*. Le specie *S. chmielewskii*, *S. lycopersicum* e *S. pimpinellifolium* sono autofertili con un diverso grado di

interincrocio facoltativo, così come l'autocompatibilità può rinvenirsi in diversi biotipi di *S. habrochaites* e *S. pennellii* (Taylor 1986; Rick 1986a).

Ad oggi sono stati condotti numerosi studi con l'obiettivo di caratterizzare le specie selvatiche per importanti caratteri relativi alla qualità ed alla resistenza/tolleranza a stress biotici (Foolad 2007; Grandillo *et al.* 2011b, Peralta e Spooner 2008).

Nel complesso, sono disponibili oltre 75.000 accessioni di germoplasma di *Solanum* sez. *Lycopersicon* mantenute in banche genetiche presenti in oltre 120 paesi di tutto il mondo (Robertson e Labate 2007). Tra queste ricordiamo quelle dell' "Asian Vegetable Research" e del "Development Center (AVRDC)" dell' "United States Department of Agriculture (USDA)" del "Plant Genetic Resources Unit" a Geneva e del "CM Rick Tomato Genetics Resource Center (TGRC)", dell'Università della California. In particolare, il TGRC (<http://tgrc.ucdavis.edu>) è conosciuto per la conservazione della più numerosa collezione di specie selvatiche di pomodoro che comprende più di 1.000 accessioni di specie selvatiche. Collezioni di germoplasma di pomodoro sono conservate anche in Olanda (IVT), Russia (VIR), Giappone (NIAS), Perù (DHUNA) e Cuba (INIFAT) (Peralta *et al.* 2005). Si conservano, inoltre, linee di introgressione, linee di sostituzione e migliaia di stock monogenici di pomodoro e di mutanti che sono stati caratterizzati fenotipicamente e catalogati (<http://tgrc.ucdavis.edu>; <http://www.zamir.sgn.cornell.edu> ).

Tuttavia, nonostante la notevole fonte di variabilità allelica e di caratteri agronomicamente utili che è possibile rinvenire in questo enorme patrimonio genetico, finora gli agricoltori non sono stati in grado di sfruttare le potenzialità di questo importante pool genico (Tanksley e MacCouch 1997). Più comunemente, le specie selvatiche sono state utilizzate come fonte di resistenze monogeniche ad insetti e a malattie crittogamiche. Ad esempio, riguardo a quest'ultimo aspetto, fatta eccezione per pochi casi, tutti i geni di resistenza sono stati ottenuti dalle specie selvatiche, delle quali, *S. chilense*, *S. peruvianum*, *S. habrochaites* e *S. pimpinellifolium* rappresentano le fonti più importanti. Nel complesso, nel germoplasma selvatico sono state individuate resistenze a 42 agenti patogeni e almeno 20 di queste sono state introgresse con successo nel pomodoro coltivato (Rick e Chetelat 1995; Ji e Scott 2007; Robertson e Labate 2007). Già nel 2001, il Prof. Zamir evidenziava che i più diffusi ibridi commerciali portavano fino a quindici combinazioni indipendenti di geni di resistenza, derivanti da suddette specie selvatiche.

Purtroppo, l'uso di questo germoplasma come fonte di alleli favorevoli per il miglioramento dei caratteri complessi, importanti per i breeder (resa, qualità e tolleranza agli stress biotici e abiotici ad eredità poligenica), è stato fino, ad oggi, più limitato.

Questo può essere spiegato dal fatto che il trasferimento di caratteri complessi da queste specie selvatiche, che al contempo portano con sé molti geni indesiderati nelle linee d'élite, è un processo lungo e laborioso che richiede una efficiente procedura di selezione e molte generazioni di reincrocio col parentale coltivato, al fine di recuperare la maggior parte del background genetico di quest'ultimo. In realtà, i caratteri come la resa, la qualità nutrizionale e la tolleranza agli stress spesso mostrano un modello poligenico di eredità derivante dalla segregazione di numerosi QTL (Quantitative Trait Loci), la cui espressione è modificata dal background genetico e dall'ambiente. Inoltre, si riscontrano diverse problematiche nell'utilizzo degli incroci interspecifici, tra cui: incompatibilità unilaterale, sterilità dell'ibrido, sterilità delle generazioni segreganti, mancanza di ricombinazione tra i cromosomi delle due specie e presenza di loci indesiderati che potrebbero essere trasferiti insieme ai caratteri di interesse (fenomeno meglio conosciuto come "linkage drag"). Inoltre, gran parte del germoplasma selvatico è fenotipicamente inferiore alle cultivar moderne per molti dei caratteri quantitativi che i breeders vorrebbero migliorare (Tanksley 1993b).

Molte di queste limitazioni possono essere oggi superate mediante l'uso di marcatori molecolari; infatti, studi su caratteri quantitativi condotti in pianta hanno mostrato che il germoplasma selvatico, sebbene sia generalmente caratterizzato da un fenotipo inferiore, può presentare geni in grado di aumentare in modo significativo anche la produttività e la qualità di varietà "élite" (Grandillo *et al.* 2008; de Vicente e Tanksley 1993; Eshed e Zamir 1995). Inoltre, l'uso di marcatori molecolari permette di identificare con maggiore precisione gli individui che contengono cromosomi ricombinanti in grado di rompere legami indesiderati al fine di ridurre gli effetti negativi del "linkage drag". Una volta identificati i marcatori strettamente associati a un gene bersaglio o ad QTL, la selezione assistita mediante marcatori molecolari (MAS) può essere utilizzata per un trasferimento più efficiente del gene / QTL desiderato in qualsiasi background genetico di élite (Collard e Mckill 2008).

### **3. Studio dei caratteri quantitativi in pomodoro attraverso l'uso di marcatori molecolari e delle mappe genetiche**

I caratteri quantitativi mostrano una variabilità fenotipica continua ed hanno un eredità poligenica dal momento che sono controllati da due o più geni.

Il valore dei marcatori genetici come sistema di selezione indiretta per i caratteri quantitativi è conosciuto fin dagli inizi del 1900, quando Sax identificò un'associazione tra la

dimensione e la pigmentazione del rivestimento dei semi in *Phaseolus vulgaris*. Successivamente, altri studi hanno riportato il legame tra geni che influenzano caratteri quantitativi e singoli geni usati come marcatori (Smith 1937; Thompson 1975).

L'identificazione di un gene che controlla un carattere quantitativo sulla base di un gene marcatore strettamente associato (responsabile di un carattere qualitativo facilmente analizzabile) ha richiesto molto tempo, per due importanti motivazioni: la mancanza di marcatori genetici appropriati e l'inadeguatezza delle mappe genetiche disponibili.

Purtroppo, l'uso dei marcatori morfologici, per la costruzione di mappe genetiche, è limitato dalla difficoltà di poter analizzare un numero sufficiente di tali marcatori nella stessa popolazione segregante, e dai problemi dovuti ai possibili effetti pleiotropici nei confronti del carattere quantitativo in esame.

La seconda generazione di marcatori genetici è rappresentata dagli isozimi, che hanno lo svantaggio di essere molto limitati in numero e spesso non risultano essere polimorfici tra genotipi strettamente correlati (Foolad *et al.* 1993; Tanksley e Orton 1983). L'ultima mappa genetica classica, pubblicata negli anni '80, per il pomodoro, consisteva di circa 400 marcatori associati a caratteri morfologici, fisiologici, isozimi e geni di resistenza alle malattie mappati lungo tutto il genoma (Stevens e Rick, 1986; Tanksley 1993a; Mutschler *et al.* 1987).

L'avvento dei marcatori molecolari a DNA, quali gli RFLP "Restriction Fragment Length Polymorphism" (Botstein *et al.* 1980; Wyman e White 1980), ha rivoluzionato le procedure di selezione e gli schemi di miglioramento genetico delle più importanti specie di interesse agrario. Infatti, i marcatori molecolari permettono il mappaggio dei loci che controllano i caratteri quantitativi, non risentono dell'influenza dell'ambiente e quindi consentono la selezione su base genotipica degli individui che presentano gli alleli favorevoli ai fini della manifestazione fenotipica.

I primi marcatori molecolari che hanno avuto un certo rilievo nella creazione delle mappe genetiche molecolari e nello studio dei caratteri quantitativi, sono stati gli RFLP "Restriction Fragment Length Polymorphism" (Botstein *et al.* 1980; Wyman e White 1980). In seguito, sono stati sviluppati differenti tipi di marcatori molecolari basati sulla tecnologia PCR "Polymerase Chain Reaction" (Saiki *et al.* 1988), come i RAPD "Random Amplified Polymorphic DNA" (Williams *et al.* 1990), i microsatelliti o SSR "Simple Sequence Repeats" (Tautz 1989), i CAPS "Cleaved Amplified Polymorphic Sequence" (Botella *et al.* 1997), gli SCAR "Sequence Characterized Amplified Region" (Ohmori *et al.* 1996), gli AFLP "Amplified Fragment Length Polymorphism" (Vos *et al.* 1995), gli ESTs "Expressed Sequence Tags" (Adams *et al.* 1991), gli

SNPs “Single-nucleotide polymorphisms” (Landegren *et al.* 1998), i COS “Conserved Ortholog Set” (Fulton *et al.* 2002a) ed i COSII “Conserved Ortholog Set II” (Wu *et al.* 2006).

In riferimento ai marcatori COS, il sequenziamento completo del genoma di *Arabidopsis thaliana* ha permesso di disegnare marcatori molecolari sviluppati da un set di geni ortologhi conservati e a singola copia (geni *cos*). I marcatori COS e COSII (Conserved Ortholog Set II) derivano dal confronto del database di EST di pomodoro contro l'intero genoma di *Arabidopsis* (Fulton *et al.* 2002b, Wu *et al.* 2006). Il vantaggio di questi marcatori è che sono condivisi dalla maggior parte delle specie Eudicotiledoni, che includono anche le Solanaceae e che rappresentano il più grande raggruppamento di piante da fiore. Infatti, esse includono più di 75.000 specie, ossia circa un quarto delle stimate 300.000 specie di piante da fiore che attualmente sono presenti sulla terra. L'allineamento delle sequenze ortologhe ottenute da varie specie ha permesso di disegnare “primer universali” che possono essere utilizzati per amplificare i corrispondenti geni ortologhi a partire da un'ampia gamma di gruppi tassonomici, anche quelli per i quali non sono disponibili anche dati di sequenze. I geni COSII e i corrispondenti “primer universali” costituiscono un potente strumento per la creazione di un network di sintenia tra Solanacee e *Arabidopsis*, per gli studi di filogenesi, di genomica comparativa, di evoluzione e di organizzazione del genoma. L'importanza e la validità di questi nuovi marcatori è stata dimostrata appunto in studi filogenetici, così come in studi di “comparative mapping” tra pomodoro, patata (Gebhardt C, comunicazione personale), melanzana e peperone (Wu *et al.* 2009a, 2009b). Inoltre, per testare l'efficienza dei marcatori COSII per il “mapping comparativo” di specie ad elevate distanze filogenetiche, si sta analizzando un subset di marcatori COSII in pomodoro e caffè (*Coffea canephora*) (Florent *et al.* 2010).

Il ricorso ai marcatori molecolari e alle mappe genetiche consente di verificare se due alleli marcatori sono riconducibili allo stesso locus oppure sono attribuibili a loci distinti che controllano il carattere quantitativo. Così disponendo di due o più genotipi parentali aventi lo stesso fenotipo, determinato però da geni posizionati in loci distinti di mappa, attraverso incroci controllati e selezione assistita è possibile combinare gli alleli favorevoli di questi loci in uno stesso individuo in modo da aumentarne potenzialmente il valore fenotipico.

La base dei programmi di selezione assistita è, dunque, rappresentata da mappe genetiche sature di marcatori molecolari. Qualora un gene che controlla un carattere difficile da studiare a livello fenotipico risulti strettamente associato ad un marcatore molecolare, allora significa che l'allele al locus di interesse è ereditato prevalentemente insieme al locus del marcatore individuato.

Nel 1992, Tanksley e i suoi collaboratori hanno pubblicato la prima mappa molecolare di pomodoro ad alta densità, che comprendeva 1.030 marcatori molecolari, costruita sulla base di una popolazione di 67 piante F<sub>2</sub> derivanti da un incrocio *S. lycopersicum* (cv. VF36-Tm2a) × *S. pennellii* (LA0716) (Tanksley *et al.* 1992). Questa mappa, periodicamente aggiornata e conosciuta come mappa Tomato-EXPEN 1992, include marcatori RFLP, isozimi e alcuni marcatori morfologici ([www.sgn.cornell.edu](http://www.sgn.cornell.edu)).

Molte mappe genetiche sono state sviluppate utilizzando marcatori basati sulla PCR per integrare le mappe costruite utilizzando marcatori RFLP. Esse hanno l'obiettivo di mappare i geni o i loci che influenzano caratteri quantitativi ("Quantitative Trait Loci", QTL) di interesse agronomico e biologico (Labate *et al.* 2007; Grandillo *et al.* 2011b).

In particolare, una popolazione F<sub>2</sub> derivante da un incrocio tra *S. lycopersicum* (LA0925) x *S. pennellii* (LA0716) composta da circa 80 individui, è stata utilizzata per costruire la prima mappa genetica basata esclusivamente su marcatori PCR in grado di coprire l'intero genoma di pomodoro (Frary *et al.* 2005).

Marcatori COS e COSII sono stati mappati sullo stessa popolazione F<sub>2</sub> usata da Frary *et al.* (2005). Questa mappa molecolare ad alta densità, conosciuta come la mappa Tomato-EXPEN 2000, attualmente contiene anche un sottoinsieme di marcatori RFLP derivanti dalla mappa Tomato-EXPEN 1992, precedentemente menzionata, un numero significativo di SSR identificati in EST, e altri marcatori CAPS, per un totale di oltre 2500 marcatori e una lunghezza totale di circa 1460 cM ([http://solgenomics.net/cview/map.pl?map\\_version\\_id=52](http://solgenomics.net/cview/map.pl?map_version_id=52)).

Dal momento che molti caratteri di interesse agrario non risultano segregare in questa popolazione e molti dei marcatori molecolari presenti su questa mappa non risultano polimorfici in altre popolazioni di mappaggio di pomodoro, numerose mappe genetiche sono state costruite partendo da incroci tra le varietà coltivate e differenti specie selvatiche di pomodoro (Labate *et al.* 2007; Grandillo *et al.* 2011b).

La base metodologica dell'analisi QTL è semplice in quanto prevede lo studio della co-segregazione degli alleli mendeliani ai loci che controllano il carattere quantitativo con alleli marcatori a uno o più loci genomici. Gli individui che costituiscono la popolazione segregante sono infatti impiegati sia per la misurazione del carattere quantitativo sia per la rilevazione dei marcatori molecolari. Un'analisi QTL accurata richiede, in primo luogo, la disponibilità di una mappa genetica con marcatori molecolari ordinati nei vari gruppi di associazione, corrispondenti ai cromosomi del corredo di base della specie. Più densamente satura di marcatori è la mappa genetica

e maggiore è la probabilità di trovare una stretta associazione fra carattere quantitativo e un marcatore molecolare, e quindi di localizzare i QTL con precisione.

Ci sono diversi tipi di disegni sperimentali che possono essere utilizzati per l'analisi QTL a seconda del sistema riproduttivo delle specie vegetali (Kearsey e Pooni 1996). A causa della scarsa variabilità genetica del germoplasma di pomodoro coltivato, molti studi di mappatura di QTL condotti per questa coltura hanno coinvolto incroci interspecifici tra *Solanum lycopersicum* e specie selvatiche affini, sebbene, in alcuni casi, gli incroci intraspecifici nella specie domesticata sono stati utilizzati con successo (Saliba-Colombani *et al.* 2000; Causse *et al.* 2002).

Nelle specie autogame, quali il pomodoro, gli studi QTL spesso fanno uso di  $F_2$  o progenie di reincrocio (BC) in quanto sono le generazioni più facili e veloci da ottenere. Il vantaggio nell'utilizzo di una popolazione  $F_2$  rispetto ad una di reincrocio risiede nel fatto che è possibile identificare anche QTL con effetto recessivo e, inoltre, è anche possibile determinare il grado di dominanza di un QTL, essendo in esse rappresentate tutte e tre le classi genotipiche.

Tuttavia, queste popolazioni segreganti hanno due principali svantaggi: ogni genotipo non può essere replicato e quindi valutato diverse volte (ad esempio, in diverse condizioni ambientali e/o anni diversi) inoltre, dal momento che i QTL sono identificati nelle prime generazioni, quando il livello di interazione epistatica tra gli alleli del parentale donatore può essere ancora elevato, essi spesso perdono i loro effetti una volta che vengono introgressi nel background genetico delle linee d'élite.

L'utilizzo delle popolazioni di mappaggio, quali  $BC_1$ ,  $F_2/F_3$ , così come popolazioni di "recombinant inbred" (RI) derivate da incroci interspecifici di pomodoro, hanno evidenziato un altro problema: quello di possedere ancora una gran parte di genoma selvatico (Eshed e Zamir 1995). Questi individui, infatti, potrebbero essere caratterizzati da sterilità parziale o completa che potrebbe non consentire l'individuazione di QTL di potenziale interesse (ad esempio, la produttività), così come accaduto nei primi studi che utilizzavano questo tipo di "mapping populations" (Nienhuis *et al.* 1987; Paterson *et al.* 1988; De Vicente e Tanksley 1993). Al fine di ridurre alcune delle carenze di cui sopra, nel corso del tempo diversi altri tipi di popolazioni sono state sviluppate e utilizzate per l'analisi QTL in pomodoro. Tra queste: "Advanced backcross" (AB), linee "inbred backcross" (BIL) e "introgression lines" (IL).

L'analisi QTL condotta in popolazioni segreganti iniziali, generalmente, permette solo una localizzazione approssimativa del QTL. Gli intervalli di confidenza (CI) associati alla posizione dei QTL nelle popolazioni segreganti sono ampi (van Ooijen 1992). L'attendibilità di questi intervalli dipende molto dall'ereditabilità del singolo QTL, che può essere migliorata in due modi: riducendo



al minimo la variabilità ambientale attraverso la realizzazione di molte repliche di ogni individuo (questo può essere facilmente raggiunto con RIL, doppi-aploidi e popolazioni IL) o riducendo la variabilità residua dovuta ad altri QTL, che può essere identificata e rimossa dall'errore (Jansen e Stam 1994).

Un altro problema associato nell'analisi QTL condotta con le popolazioni segreganti iniziali riguarda la capacità di identificare il numero reale di QTL coinvolti nell'espressione di un carattere quantitativo. Hyne e Kearsey (1995) hanno dimostrato che in genere è difficile identificare più di 12 QTL in una singola popolazione di mappatura, inoltre, il numero reale di QTL in genere viene sottostimato perché solo i pochi QTL di effetto elevato vengono identificati.

Se esiste un numero elevato di QTL che influenzano un determinato carattere, per definizione non possono tutti avere un effetto elevato sul fenotipo o individualmente rappresentare una frazione elevata della varianza genetica. Di fatto, i risultati degli studi di analisi QTL, condotti fino ad oggi, indicano una distribuzione a forma di "L" degli effetti dei QTL (Kearsey e Farquhar 1998; Brem e Kruglyak 2005); ossia la maggior parte dei QTL ha un piccolo effetto sul fenotipo, mentre solo alcuni mostrano un effetto elevato.

Gli effetti dei QTL possono essere notevolmente influenzati dalle condizioni ambientali e sono ormai numerosi gli esempi di interazione QTL x ambiente che mostrano come l'espressione di particolari regioni cromosomiche cambiano a seconda degli ambienti. La mancanza di costanza degli effetti del QTL nei diversi ambienti, ovvero l'interazione genotipo x ambiente, porta il breeder a considerare come non interessanti per la MAS quei QTL che si comportano in questo modo. Invece, va considerato che se un QTL mostra interazione genotipo x ambiente, esso può risultare utile per lo sviluppo di genotipi adatti a specifiche condizioni ambientali.

Molti studi di genetica quantitativa suggeriscono che le interazioni epistatiche tra due, tre o tra un numero superiore di loci spesso esercitano forti effetti sull'adattabilità, specialmente nelle specie autogame, ed hanno una considerevole influenza sul fenotipo (Allard 1988; Pérez de la Vega *et al.* 1994). Popolazioni del tipo RIL ("Recombinant Inbred Lines"), DH ("Doubled Haploids"), ed in modo particolare le IL, consentono di identificare più frequentemente le interazioni epistatiche, rispetto a popolazioni segreganti per interi genomi, quali ad esempio le F<sub>2</sub> e le BC (Eshed e Zamir 1996; Asíns 2002).

Per l'individuazione di QTL in popolazioni segreganti è necessario ricorrere ad analisi statistiche. Il primo approccio statistico ad essere stato utilizzato si basa sull'analisi condotta per singoli marcatori o "single point analysis"; ossia si analizzano tutte le singole associazioni tra marcatore e fenotipo (Tanksley 1993a). Tuttavia, questo metodo presenta una serie di limitazioni e

pertanto è sorta la necessità di sviluppare altre metodologie, tra cui: il metodo del SIM “Simple Interval Mapping” (Lander e Botstein 1989), il CIM “Composite Interval Mapping” e l’MQM “Multiple QTL Model” (Tanksley 1993a; Zeng 1994; Jansen e Stam 1994; Xu e Atchley 1995; Kao e Zeng 1997). Questi metodi, tuttavia, possono essere applicati a popolazioni segreganti caratterizzate da pedigree ben definiti, quali ad esempio  $F_2$ ,  $F_3$  o BC, che vengono costituiti a partire da due linee inbred.

#### **4. “QTL mapping” in pomodoro per caratteri legati all’adattamento, alla qualità ed alla produzione**

In pomodoro, sono stati effettuati diversi studi di mappatura allo scopo di identificare QTL per numerosi caratteri di interesse agronomico, tra cui la resistenza / tolleranza agli stress biotici e abiotici, la produzione, la qualità sensoriale e nutrizionale dei frutti. Questi studi, condotti nell’arco degli ultimi 25 anni, hanno dimostrato che questa specie è un sistema ideale non solo per l’identificazione e il clonaggio posizionale, ma anche per esplorare le basi genetiche della eterosi e per i risultati pratici del QTL-breeding basato sull’uso combinato della biodiversità naturale e della selezione assistita da marcatori molecolari (MAS). Di seguito è riportata una breve panoramica degli studi di mappatura di QTL condotti per tolleranza a stress abiotici, resistenza a parassiti e malattie, caratteristiche legate alla resa e alla qualità del frutto (Foolad 2007; Labate *et al.* 2007; Grandillo *et al.* 2011a, 2011b).

**Tolleranza a stress abiotici.** Grazie alle condizioni ambientali estreme tipiche dei luoghi di origine di diverse specie selvatiche di pomodoro, esse sono una preziosa risorsa per l’identificazione di QTL legati alla tolleranza agli stress abiotici. Ad esempio, QTL per tolleranza alla salinità sono stati trovati in *S. pennellii* (Zamir *et al.* 1987; Foolad e Chen 1999; Foolad e Jones 1993; Foolad *et al.* 1997), *S. pimpinellifolium* (Breto *et al.* 1994; Monforte *et al.* 1996, 1997a, 1997b, 1999 ; Foolad *et al.* 1998a, 2001; Foolad e Chen 1998) e *S. galapagense* (Monforte *et al.* 1997a, 1997b, 1999). Mentre, QTL per la tolleranza alle gelate e a freddo sono stati identificati in progenie di incroci interspecifici con *S. habrochaites* (Vallejos e Tanksley 1983; Truco *et al.* 2000) e *S. pimpinellifolium* (Foolad *et al.* 1998b). La tolleranza alla siccità è stata studiata durante diverse fasi di sviluppo della pianta e alcuni QTL favorevoli derivanti dal germoplasma selvatico sono stati

individuati in progenie derivanti da incroci con *S. pennellii* (Martin *et al.* 1989; Xu *et al.* 2008) e *S. pimpinellifolium* (Foolad *et al.* 2003).

**Resistenza a parassiti e a malattie.** La mappatura di QTL e la MAS risultano particolarmente utili nel trasferimento di resistenze poligeniche orizzontali (di campo o razza-non specifiche) per le quali la selezione fenotipica può essere difficile e non produrre i risultati desiderati. Diversi QTL per la resistenza alle malattie sono stati mappati utilizzando popolazioni interspecifiche ma, finora, l'uso della MAS per migliorare la resistenze quantitative alle malattie in pomodoro rimane limitata (Foolad 2007). Un QTL ad effetto maggiore per la resistenza al *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV) è stato identificato in una progenie di *S. pimpinellifolium* (Chaguè *et al.* 1997), mentre, in incroci interspecifici con *S. chilense*, è stato mappato un QTL per la resistenza oligogenica al *Tomato Mottle Virus* (ToMoV) (Griffiths e Scott 2001; Ji e Scott 2005; Agrama e Scott 2006; Ji *et al.* 2007). Inoltre, studi di mappatura QTL sono stati condotti per identificare marcatori molecolari associati alle resistenze alle tre principali malattie batteriche di pomodoro: cancro batterico (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) (Sandbrink *et al.* 1995; van Heusden *et al.* 1999; Kabelka 2002), maculatura batterica (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) (Yu *et al.* 1995; Yang *et al.* 2005) e avvizzimento batterico da *Ralstonia solanacearum* (Danesh *et al.* 1994; Thoquet *et al.* 1996a, 1996b; Mangin *et al.* 1999; Wang *et al.* 2000). In riferimento alle malattie fungine, una resistenza quantitativa all'oidio (*Oidium lycopersici*) è stata mappata in popolazioni segreganti di *S. neorickii* (Bai *et al.* 2003), mentre QTL per la resistenza ad alternariosi (*Alternaria alternata* e *Alternaria solani*) sono stati mappati in *S. cheesmaniae*, *S. arcanum* e *S. habrochaites* (Robert *et al.* 2001; Chaerani *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2003).

**Qualità del frutto e caratteri legati alla produzione.** Numerosi caratteri influenzano la qualità del frutto di pomodoro e la maggior parte di essi sono ereditati in maniera poligenica. L'importanza relativa di ogni carattere è funzione della destinazione commerciale del prodotto (consumo fresco o per la trasformazione).

Il peso e la forma del frutto sono controllati da diversi QTL mappati in diverse popolazione interspecifiche (Grandillo *et al.* 1999; Foolad 2007; Labate *et al.* 2007; Grandillo *et al.* 2011a, 2011b). Il colore rosso del frutto di pomodoro, determinato dal contenuto di licopene, è stato studiato utilizzando popolazioni interspecifiche di *S. pimpinellifolium* (Chen *et al.* 1999), *S. habrochaites* (Bernacchi *et al.* 1998b), *S. pennellii* (Monforte *et al.* 2001; Liu *et al.* 2003), *S. arcanum* (Fulton *et al.* 2000) e *S. neorickii* (Fulton *et al.* 1997). Zuccheri e acidi organici

rappresentano circa il 60% della sostanza secca del pomodoro e sono elementi chiave del tipico sapore di questo frutto (Davies e Hobson 1981). Studi di mappatura QTL per l'analisi del contenuto in zuccheri e dei caratteri correlati (brix, contenuto in fruttosio, glucosio, saccarosio), sono stati condotti in popolazioni derivanti da otto diverse specie: *S. cheesmaniae* (Paterson *et al.* 1991; Goldman e Zamir 1995), *S. chmielewskii* (Azanza *et al.* 1994; Osborn *et al.* 1987; Paterson *et al.* 1988, 1990), *S. habrochaites* (Bernacchi *et al.* 1998a), *S. neorickii*, *S. pimpinellifolium* (Fulton *et al.* 2000; Grandillo e Tanksley 1996b; Tanksley *et al.* 1996; Chen e Foolad 1999; Doganlar *et al.* 2002), *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995; Causse *et al.* 2004; Frary *et al.* 2004b), *S. arcanum* (Fulton *et al.* 1997) e *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* (Saliba-Colombani *et al.* 2001; Georgelis *et al.* 2006).

Anche la produttività è stata analizzata in studi di mappatura condotti in *S. pimpinellifolium* (Tanksley *et al.* 1996), *S. arcanum* (Fulton *et al.* 1997), *S. habrochaites* (Bernacchi *et al.* 1998a, 1998b; Monforte e Tanksley 2000; Monforte *et al.* 2001), *S. neorickii* (Fulton *et al.* 2000), *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995; Eshed *et al.* 1996; Frary *et al.* 2004b; Gur e Zamir 2004; Schauer *et al.* 2006, 2008; Semel *et al.* 2006; <http://zamir.sgn.cornell.edu>), *S. chmielewskii* (Azanza *et al.* 1994). Allo stato attuale, sulla base degli studi condotti sulla popolazione di IL derivanti da *S. pennellii* LA0716 (Eshed e Zamir 1995; Eshed *et al.* 1996), su popolazioni di "Advanced backcross" di diverse specie selvatiche (Tanksley *et al.* 1996; Fulton *et al.* 1997, 2000; Bernacchi *et al.* 1998a; Frary *et al.* 2004a), è possibile affermare che la resa, in questa solanacea, è influenzata da 30 QTL, distribuiti su tutti e 12 cromosomi (Labate *et al.* 2007; Grandillo *et al.* 2010a, 2010b).

## 5. "Fine mapping", clonaggio posizionale e approccio del gene candidato

Quando un QTL è mappato all'interno di una regione genomica, significa che c'è almeno un gene responsabile della frazione di variazione fenotipica. L'identificazione di tale gene richiede una precisa caratterizzazione a livello genetico mediante strategie di clonaggio posizionale o "map-based cloning". Il "map-based cloning" è stato utilizzato con successo per la caratterizzazione di diverse mutazioni mendeliane in pomodoro, tuttavia pochissimi QTL sono stati caratterizzati a livello molecolare (Paran e Zamir 2003; Salvi e Tuberosa 2005; Price 2006; Grandillo *et al.* 2011b).

In pomodoro, fino ad ora, sono stati clonati due QTL per il peso del frutto, *fw2.2*, un QTL di maggiore effetto che influenza la dimensione del frutto mediante il controllo del ciclo cellulare (Frary *et al.* 2000), e *fas* che controlla la massa del frutto attraverso l'incremento dell'area della

placenta e del numero di loculi) (Cong *et al.* 2008). Inoltre, sono stati clonati due QTL, *sun* (Xiao *et al.* 2008) e *ovate* (Liu *et al.* 2002), che controllano l'allungamento del frutto e quindi influenzano il modello di sviluppo lungo l'asse apicale-basale. Riguardo invece alla qualità, è stato clonato il QTL *brix9-2-5*, che controlla la produzione in solidi solubili, e che codifica per una invertasi della parete cellulare. Il clonaggio di QTL è un compito più difficile rispetto a quello dei "major genes" perché il QTL influenza solo parzialmente la variazione fenotipica del carattere in esame, ed il suo effetto può essere stimato solo con metodi statistici.

Quando i geni relativi a determinati processi di sviluppo per un carattere, o coinvolti nell'espressione del carattere stesso, sono noti (geni candidati), è possibile verificare se il polimorfismo in uno di essi è correlato alla variazione fenotipica. In entrambi i casi è necessario ridurre l'intervallo intorno al QTL attraverso il "fine mapping" (Labate *et al.* 2007).

I recenti sviluppi dei metodi automatizzati di sequenziamento del DNA e di genotipizzazione a singoli loci, mediante SSR e SNP hanno permesso un'accelerazione nello sviluppo di mappe genetiche e nella caratterizzazione molecolare dei loci offrendo nuove possibilità per il mappaggio di QTL. Il concetto tanto emergente, quanto innovativo, è appunto quello di analizzare direttamente la variazione nucleotidica in determinate posizioni del genoma in corrispondenza di specifici geni (o geni candidati), e di saturare i gruppi di associazione con marcatori al fine di analizzare interamente il genoma di un dato organismo ("whole genome scanning").

## **6. Strategie di breeding molecolare per l'identificazione e l'uso di QTL di specie selvatiche di pomodoro**

I numerosi studi di analisi QTL condotti durante gli ultimi decenni hanno mostrato che la maggior parte dei caratteri quantitativi tende ad essere controllata da pochi QTL con effetto maggiore sul fenotipo insieme ad un numero variabile di QTL di minore effetto (Tanksley 1993a). Questo ha importanti implicazioni per il miglioramento genetico dei caratteri quantitativi poiché i QTL di effetto maggiore dovrebbero risultare più facilmente manipolabili mediante una selezione assistita dall'uso di marcatori molecolari.

Nel tentativo di favorire un risvolto più pratico degli studi di analisi QTL mirato all'ottenimento di varietà migliorate, sfruttando maggiormente la variabilità genetica presente nel germoplasma selvatico, alcuni anni fa sono state proposte due strategie innovative per il

miglioramento genetico di caratteri quantitativi assistito dall'uso di marcatori molecolari: l'“Advanced Backcross QTL analysis” (AB-QTL) (Tanksley e Nelson 1996) e l'uso di popolazioni di IL derivate da incroci interspecifici dette anche “Exotic libraries” (Eshed e Zamir 1995) (**Fig. 2**).

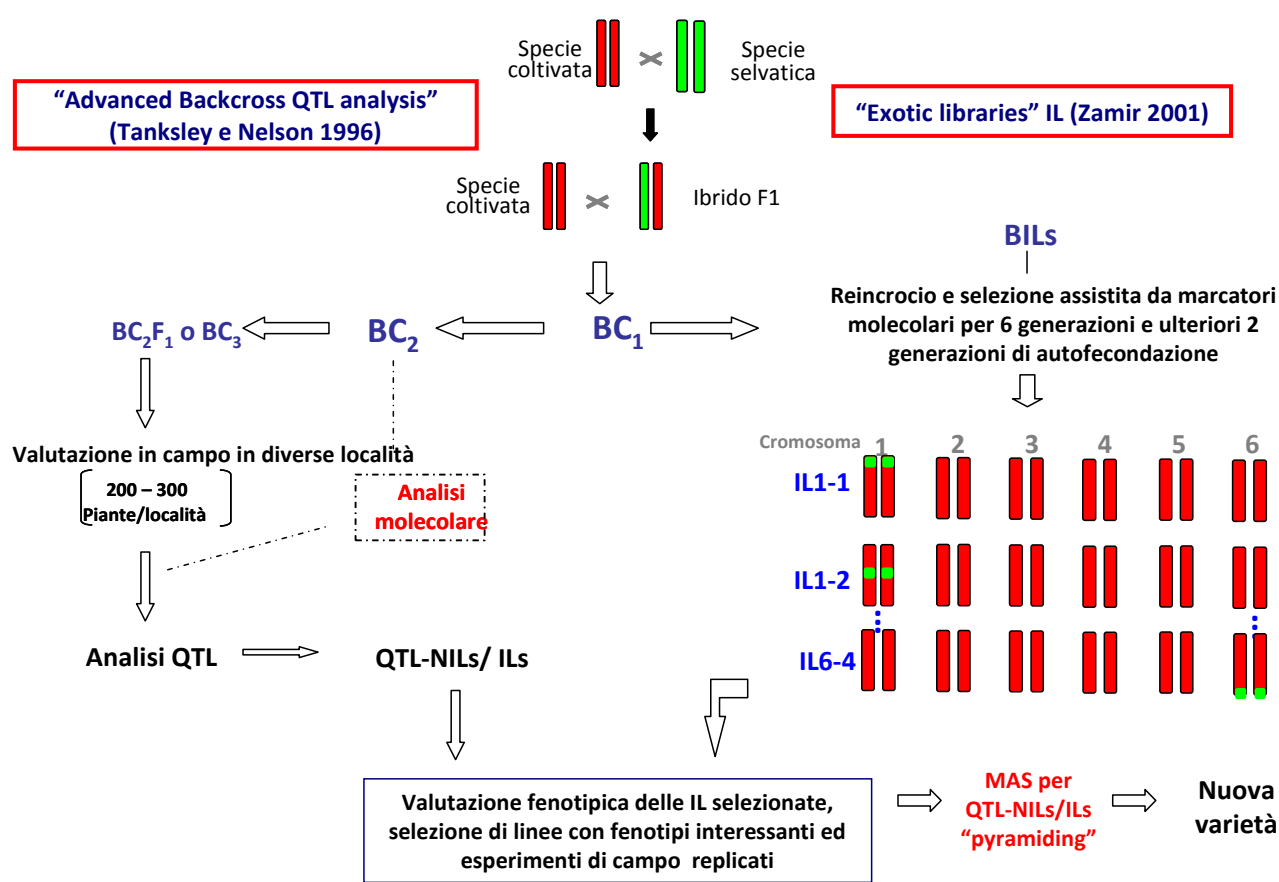
### **6.1 La strategia dell' “Advanced Backcross QTL analysis”**

Il metodo di analisi “Advanced Backcross QTL” (AB-QTL) è stato proposto da Tanksley e Nelson (1996) come un nuovo metodo di “breeding” molecolare capace di integrare l'identificazione di QTL utili, derivanti dal germoplasma selvatico, con lo sviluppo di nuove varietà dotate di caratteristiche superiori.

La strategia differisce da altri metodi di analisi QTL perché le analisi molecolari e fenotipiche vengono effettuate in generazioni avanzate di reincrocio, quali BC<sub>2</sub> e BC<sub>3</sub>, quando la porzione del genoma del parentale donatore (selvatico) è ridotta e pertanto la popolazione segregante è molto simile al parentale ricorrente. Inoltre, durante lo sviluppo di queste popolazioni avanzate viene effettuata una selezione genotipica e/o fenotipica contro caratteri quali sterilità e habitus di crescita non desiderato che potrebbero altrimenti interferire con le successive misurazioni della produzione e di altri caratteri agronomici (Tanksley e Nelson 1996). Per le colture in cui le varietà “open pollinated” sono la norma, la valutazione fenotipica può essere effettuata su BC<sub>2</sub>S<sub>1</sub> o BC<sub>3</sub>S<sub>1</sub>. Al contrario, per le specie nelle quali l'uso degli ibridi commerciali è prevalente, le generazioni di reincrocio BC<sub>2</sub> o BC<sub>3</sub> vengono incrociate con varietà di élite per generare famiglie BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> o BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub> (Tanksley e Nelson 1996).

Dal momento che nelle generazioni avanzate di reincrocio gli alleli del parentale ricorrente sono presenti con una frequenza elevata, si riduce la probabilità di identificare QTL che necessitano di interazioni epistatiche tra gli alleli del parentale donatore e per contro aumenta la probabilità di individuare QTL con effetto additivo che con maggiore probabilità continueranno ad esercitare l'effetto atteso una volta trasferiti nel background genetico del parentale ricorrente.

Una volta che gli alleli QTL utili vengono identificati, sono necessari solo poche generazioni di MAS per produrre linee quasi isogeniche (NIL) o linee di introgressione (IL) che possono essere testate in campo per confermare l'effetto dei QTL e successivamente utilizzate per lo sviluppo di varietà migliorate. Quindi, con questa metodologia di breeding è possibile risparmiare molto tempo e lavoro, al contrario di altre strategie in cui, una volta individuato un QTL, il lavoro di introgressione dello stesso nella varietà d'élite deve ancora iniziare (Tanksley e Nelson 1996) (**Fig. 2**).



**Fig. 2.** Strategie dell’ “Advances Backcross QTL analysis” (Tanksley e Nelson 1996) e dell’ “Exotic libraries” (Zamir 2001) per l’utilizzo delle specie selvatiche in pomodoro.

La strategia AB-QTL è stata sviluppata e testata inizialmente in pomodoro (Tanksley *et al.* 1996), ma successivamente, è stata adattata ad altre colture quali: riso (Xiao *et al.* 1996, 1998; Moncada *et al.* 2001; Thomson *et al.* 2003; Septiningsih *et al.* 2003a, 2003b), mais (Ho *et al.* 2002), frumento (Huang *et al.* 2003; Narasimhamoorthy *et al.* 2006), peperone (Rao *et al.* 2003), orzo (Pillen *et al.* 2003, 2004; von Korff *et al.* 2005, 2006; Li *et al.* 2005) e fagiolo (Blair *et al.* 2006).

In pomodoro, il metodo è stato applicato utilizzando cinque specie selvatiche di pomodoro: *S. pimpinellifolium* LA1589 (Grandillo e Tanksley 1996; Tanksley *et al.* 1996), *S. arcanum* LA1708 (Fulton *et al.* 1997), *S. habrochaites* LA1777 (Bernacchi *et al.* 1998a, 1998b), *S. neorickii*, LA2133 (Fulton *et al.* 2000) e *S. pennellii* LA1657 (Frary *et al.* 2004b). Le popolazioni ottenute da questi studi sono state testate in campo, in differenti località, per valutarne caratteristiche importanti

dal punto di vista industriale tra cui la produzione totale, la produzione commerciale e la qualità del frutto (colore, viscosità, pH, contenuto in solidi solubili o brix e consistenza). Inoltre, le prime quattro popolazioni AB-QTL sono state anche analizzate per i caratteri che influenzano la qualità sensoriale del frutto (Fulton *et al.* 2002a). In tutti e cinque gli studi di AB-QTL in pomodoro, sono stati identificati alleli QTL agronomicamente utili, derivanti dal germoplasma selvatico, per quasi la metà dei caratteri valutati. Va sottolineato che alleli selvatici favorevoli sono stati identificati non soltanto per i caratteri per i quali le specie selvatiche mostravano un fenotipo superiore come, ad esempio, il contenuto in solidi solubili, ma anche per quei caratteri per i quali il fenotipo selvatico era in molti casi agronomicamente inferiore, come la produzione totale, la dimensione del frutto e il colore del frutto. Per alcune di queste linee i guadagni genetici ottenuti, rispetto alla varietà controllo E6203, hanno raggiunto valori rispettivamente del 22%, 33% e 48% per il brix, il colore del frutto e la produzione.

Dopo aver saggiato diversi genomi di specie selvatiche, è stato evidenziato che il tasso di scoperta di "nuovi" alleli QTL era ancora approssimativamente intorno al 50% (Grandillo *et al.* 2008). Questi risultati suggeriscono quindi le potenzialità dell'utilizzo di germoplasma esotico per l'identificazione e l'utilizzo di nuovi QTL utili per il miglioramento genetico di questa solanacea.

## **6.2 “Exotic libraries” o popolazioni di linee di introgressione**

Le IL permettono sia l'analisi QTL estesa ad interi genomi (Eshed e Zamir 1995), sia la mappatura fine dei QTL (Paterson *et al.* 1990).

Considerando le proprietà delle popolazioni di IL e le potenzialità del germoplasma selvatico, come risorsa di variabilità genetica che ha superato la pressione della selezione naturale durante l'evoluzione, Zamir (2001) ha proposto di investire nello sviluppo di librerie genetiche (“exotic libraries”, o popolazioni di IL), per aumentare la velocità del miglioramento genetico del germoplasma coltivato basato sul trasferimento di caratteri utili dalle specie selvatiche. Ogni “exotic library” consiste di un set di IL, originate da cicli di reincrocio e selezione assistita da marcatori molecolari, che definiscono la posizione delle introgressioni del parentale donatore nel genoma del parentale ricorrente (**Fig. 2**).

Inizialmente, uno degli svantaggi di questo tipo di popolazioni era legato ai tempi relativamente lunghi per il loro sviluppo. Attualmente la disponibilità di numerose tecnologie innovative per lo screening con marcatori molecolari ha reso più efficiente il processo, tanto che



queste librerie possono essere completate dopo 10 generazioni di reincrocio assistito da marcatori molecolari (MAS) (Young 1999; Peleman e van der Voort 2003).

La prima “exotic library” prodotta in pomodoro, ed in grado di coprire l’intero genoma del parentale selvatico, è stata sviluppata da Eshed e Zamir (1995). Essa consisteva di 50 linee, ognuna contenente una singola introgressione dell’accessione a frutto verde *S. pennellii* (acc. LA0716) nel background genetico della varietà M82 di pomodoro da industria. L’utilizzo di questa popolazione ha consentito l’identificazione di diversi QTL agronomicamente utili e lo studio delle loro interazioni epistatiche ed ambientali (Eshed e Zamir, 1995, 1996; Eshed *et al.* 1996).

Come riportato da Zamir (2001) e, successivamente da Grandillo e collaboratori (2008), questi lavori evidenziano le proprietà che fanno delle “exotic libraries” uno strumento molto efficiente per l’analisi dei caratteri quantitativi.

Dal momento che ogni IL contiene una singola introgressione del parentale donatore, il suo fenotipo sarà simile a quello del parentale coltivato, questo riduce i problemi di sterilità consentendo la valutazione di caratteristiche associate alla produzione.

Un ulteriore vantaggio delle “exotic libraries” è la semplicità del metodo statistico utilizzato per l’individuazione dei QTL, basato sul confronto di ciascuna IL con il parentale ricorrente per il carattere in esame. Una differenza statisticamente significativa, per ciascun confronto, indica la presenza di uno o più QTL sul segmento cromosomico derivante dal parentale donatore e che definisce la linea di introgressione.

Inoltre sono eliminati gli effetti epistatici che sono mediati da altre regioni del genoma del parentale selvatico, con eccezione dei loci contenuti nella stessa linea di introgressione.

Dal momento che nelle linee di introgressione tutta la variabilità fenotipica per un carattere di interesse è associata all’introgressione, vengono eliminati gli effetti di mascheramento di un QTL di maggiore effetto che segrega in altre regioni del genoma e, allo stesso tempo, aumenta anche la possibilità di identificare QTL di minore effetto. Con l’utilizzo delle “exotic libraries”, rispetto ad altri tipi di popolazioni segreganti, aumenta quindi la probabilità di identificare un numero più elevato di QTL favorevoli e di effettuare un più efficiente “fine mapping” (Eshed e Zamir, 1995).

La natura permanente delle popolazioni di IL consente di effettuare le misure fenotipiche in repliche multiple, riducendo gli effetti ambientali e incrementando il potere statistico delle analisi. Inoltre, replicando le prove di campo in tempi e luoghi diversi, diviene possibile stimare le interazioni che intercorrono tra QTL e ambiente (Eshed *et al.* 1996; Monforte *et al.* 2001; Liu *et al.* 2003; Gur e Zamir 2004; Rousseaux *et al.* 2005). Ciò fornisce stime più accurate dei valori

fenotipici medi e aumenta la possibilità di identificare QTL. Grazie all'integrazione di dati provenienti da studi indipendenti è possibile, quindi, creare un *database* per l'accesso generale ai dati fenotipici di ciascuna linea (Zamir 2001).

La risoluzione di una popolazione di IL è definita dalla sovrapposizione tra segmenti contigui (BIN), in corrispondenza dei quali possono essere assegnati geni o QTL, confrontando le singole linee (Pan *et al.* 2000). La lunghezza dei BIN varia sul genoma e dipende dal numero, dalla lunghezza e dalla sovrapposizione dei segmenti adiacenti.

Sebbene le linee di introgressione che inizialmente compongono una libreria generalmente forniscono un livello di risoluzione relativamente basso, tuttavia queste rappresentano il punto di partenza per ottenere linee con introgressioni di minore lunghezza (sub-IL) che permettono una localizzazione più precisa del QTL (mappaggio ad alta risoluzione) (Paterson *et al.* 1990).

Localizzare un QTL con maggior precisione, non solo ci consente di stabilire se l'effetto fenotipico è attribuibile ad un singolo o a diversi QTL strettamente legati (Fridman *et al.* 2002), ma anche di verificare se eventuali effetti indesiderati sono causati da deriva genetica di altri geni o da effetti pleiotropici dello stesso QTL (Eshed e Zamir 1996; Monforte e Tanksley, 2000b; Monforte *et al.* 2001; Frary *et al.* 2003; Yates *et al.* 2004). Oltre alla riduzione della deriva genetica, l'ottenimento di linee con introgressioni più corte (sub-IL) permette l'identificazione di marcatori molecolari più strettamente associati ai QTL di interesse, che possono essere quindi utilizzati per il miglioramento genetico assistito da marcatori.

L'uso di IL (o NIL) che contengono un singolo QTL, insieme a IL (o NIL) contenenti combinazioni di più QTL per un dato carattere, costituisce un mezzo molto valido per rivelare e caratterizzare le interazioni epistatiche ed anche più efficiente rispetto a popolazioni di RIL (Eshed e Zamir 1996; Causse *et al.* 2007). Le IL possono anche essere utilizzate per studiare le interazioni dei QTL con l'intero background genetico. Queste possono essere studiate trasferendo lo stesso QTL in diversi background genetici (Lecomte *et al.* 2004a; Chaïb *et al.* 2006) o incrociando la stessa IL (o NIL) con differenti linee di élite (Eshed e Zamir 1995; Eshed *et al.* 1996).

Ai fini dello sviluppo di varietà migliorate attraverso l'utilizzo di nuovi QTL, i risultati di queste ricerche evidenziano con forza la necessità di trasferire e testare preventivamente gli effetti dei QTL in diversi background genetici.

Le IL possono anche essere utilizzate per studiare le basi genetiche dell'eterosi, in quanto le linee di introgressione omozigoti possono essere incrociate con linee "tester", permettendo lo studio degli effetti dell'eterozigosità sul fenotipo.

Recentemente, Semel e collaboratori (2006) hanno utilizzato le 76 IL di *S. pennellii* per valutare il contributo degli effetti sovradominanti sull'eterosi in assenza di epistasia. Allo scopo, sono stati misurati, in esperimenti di campo condotti su linee omozigoti ed eterozigoti, 35 caratteri legati alla produzione ed alle capacità riproduttive, ed in totale sono stati identificati 841 QTL. QTL sovradominanti sono stati identificati solo per caratteri riproduttivi e questo suggerisce che il vero modello sovradominante, che coinvolge un singolo locus Mendeliano, rappresenta una spiegazione più probabile dell'eterosi osservata nelle IL, rispetto al modello della pseudodominanza.

In esperimenti condotti su più anni, le IL di *S. pennellii* e le ILH ("introgression line hybrids") sono state caratterizzate per il contenuto di metaboliti primari, evidenziando, relativamente a questi ultimi, una mancanza di eterosi per le IL (Schauer *et al.* 2008).

#### **6.2.1 "Exotic libraries" disponibili in pomodoro**

L'attuale popolazione di IL di *S. pennellii* (acc. LA0716) consiste di 76 linee che coprono l'intero genoma di pomodoro delimitando 107 BIN, con una lunghezza media di 12 cM ciascuno (Pan *et al.* 2000; Liu *et al.* 2003; <http://www.sgn.cornell.edu>). Nell'ambito del progetto EU-SOL (<http://www.eu-sol.net>), questa libreria di IL si sta ampliando con l'aggiunta di 500 nuove sub-IL e questo migliorerà significativamente la risoluzione del mappaggio (Lippman *et al.* 2007).

Le linee di *S. pennellii* sono state fenotipizzate per centinaia di caratteri permettendo l'identificazione di 2.795 QTL (Lippman *et al.* 2007). Ripetute analisi sono state condotte per una ventina di caratteri associati alla produzione, alla morfologia e alle componenti biochimiche del frutto ed i dati ottenuti sono e sono disponibili sotto forma di banche dati accessibili via web (<http://zamir.sgn.cornell.edu>). Alcuni dei caratteri quantitativi analizzati includono: peso del frutto, forma del frutto, contenuto in solidi solubili, pH e produzione (Eshed e Zamir, 1994, 1995, 1996; Eshed *et al.* 1996; Monforte *et al.* 2001; Causse *et al.* 2004; Semel *et al.* 2006), morfologia fogliare (Holtan e Hake 2003; Frary *et al.* 2004a), contenuto in carotenoidi in relazione al colore del frutto (Liu *et al.* 2003), contenuto nutrizionale ed antiossidante del frutto (Rousseaux *et al.* 2005; Stevens *et al.* 2007), metaboliti primari (Causse *et al.* 2004; Baxter *et al.* 2005; Schauer *et al.* 2006, 2008), aroma (Tadmor *et al.* 2002; Tieman *et al.* 2006; Mathieu *et al.* 2009), ed efficienza dell'utilizzo idrico (WUE) (Xu *et al.* 2008).

La popolazione di IL di *S. pennellii* è stata usata anche per esplorare il potenziale del “candidate gene approach” per identificare i geni candidati per i QTL che influenzano l’intensità del colore (Liu *et al.* 2003), la forma e la composizione (Causse *et al.* 2004) ed il contenuto in acido ascorbico del frutto di pomodoro (Stevens *et al.* 2008). Inoltre, questa popolazione è stata usata per trovare associazioni tra i cambiamenti trascrittomici e la composizione del frutto (Baxter *et al.* 2005). E’ importante sottolineare che queste IL sono risultate estremamente utili per il “map-based cloning” di geni singoli e di QTL, come dimostrato dal clonaggio dei primi geni di resistenza *pto*, *Prf* e *Sw-5* (Martin *et al.* 1993; Salmeron *et al.* 1996; Brommonschenkel *et al.* 2000) e dei primi QTL (*fw2.2*; *brix9-2-5*; *ovate*; *style2.1* e *fas*).

In pomodoro, oltre alla libreria di *S. pennellii* LA0716, sono state sviluppate altre popolazioni di linee di introgressione a partire da incroci del pomodoro coltivato con altre specie selvatiche, quali *S. habrochaites* LA1777 (Monforte e Tanksley 2000a, Tripodi *et al.* 2009), *S. habrochaites* LA407 (Francis *et al.* 2001), *S. lycopersicoides* LA2951 (Chetelat e Meglic 2000; Michael *et al.* 2005; Canady *et al.* 2006), e *S. chmielewskii* LA1840 (Prudent *et al.* 2009; Ballester *et al.* 2009).

Il primo set di linee di introgressione di *S. habrochaites* (acc. LA1777) è stato sviluppato da Monforte e Tanksley (2000a) partendo da una popolazione AB-QTL (Bernacchi *et al.* 1998a, 1998b) e consiste di 99 linee tra IL e “Backcross Recombinant Inbred Lines” (BCRIL). Queste linee segregano per numerosi caratteri quali produzione, morfologia fogliare, densità di tricomi, così come per i caratteri che riguardano il frutto come forma, dimensione, colore, composizione biochimica e dei volativi e sapore. Per molti di questi caratteri, sono stati identificati alleli QTL favorevoli derivanti da suddetta specie selvatica (Monforte e Tanksley 2000b; Van der Hoeven *et al.* 2000; Monforte *et al.* 2001; Yates *et al.* 2004; Mathieu *et al.* 2009).

Sebbene questi studi dimostrano il notevole valore di questa “exotic libraries”, tuttavia bisogna sottolineare, per essa, due importanti limitazioni: i) non copre l’intero genoma della specie selvatica (la copertura è di circa l’80%), ii) la maggior parte delle linee è risultata contenere introgressioni multiple (contrariamente a quanto previsto sulla base dell’analisi molecolare condotta con i 95 marcatori RFLP), rendendo, di fatto, più complicata l’interpretazione dei risultati ottenuti dall’analisi QTL (Tripodi, 2007). Allo scopo di rendere più efficiente l’uso di queste linee per l’identificazione di QTL utili per il breeding del pomodoro, si è reso necessario lo sviluppo di una nuova serie di IL contenenti singole introgressioni della specie selvatica (“pulite”) e che consentano, nel loro insieme, di coprire l’intero genoma di *S. habrochaites* (acc. LA1777).

In pomodoro, inoltre, sono attualmente disponibili popolazioni di “Backcross Inbred Lines” (BIL) sviluppate da diversi incroci interspecifici. Tra queste ricordiamo quelle ottenute da: *S. pimpinellifolium* LA1589 (Doganlar *et al.* 2002), *S. habrochaites* LA1777 (Monforte e Tanksley 2000a), *S. habrochaites* LA407 (Kabelka *et al.* 2002), *S. arcanum* LA1708 e *S. neorickii* LA2133 (Zamir D, comunicazione personale), *S. lycopersicoides* (Chetelat *et al.* 2000), una IL (LA1501) ad elevato contenuto in solidi solubili contenente un’introgressione da *S. chmielewskii* (acc. LA1028) (Azanza *et al.* 1994). Le BIL sono state utilizzate per la mappatura di QTL per importanti caratteristiche agronomiche, tra cui la qualità del frutto (Azanza *et al.* 1994; Doganlar *et al.* 2002) e la resistenza alle malattie (Kabelka *et al.* 2002).

Queste linee hanno un’alta percentuale (per lo più superiore al 90%) del genoma del genitore ricorrente e una bassa percentuale (inferiore al 10%) di genoma della specie selvatica donatrice. A differenza delle IL che portano una singola introgressione, possibilmente omozigote, del parentale selvatico, le BIL possono ancora conservare introgressioni multiple, anche allo stato eterozigote, nel background genetico della varietà di élite.

Tra le popolazioni BIL precedentemente menzionate, attualmente, desta particolare interesse quella dell’accessione LA2133 di *Solanum neorickii* nel background genetico di *S. lycopersicum* (cv. E6203) che è stata sviluppata dal Prof. Dani Zamir, della Hebrew University, a partire dalla corrispondente popolazione di AB (Fulton *et al.* 2000).

La specie selvatica utilizzata per l’ottenimento di questa BIL è una specie a frutto verde che cresce in condizioni ambientali estreme (pareti rocciose ad altitudini di 2.000 – 3.000 metri) e può essere incrociata in maniera reciproca con il pomodoro coltivato, senza presentare problemi di incompatibilità interspecifica. Inoltre, rispetto ad altre specie selvatiche del pomodoro, *S. neorickii* è stata poco utilizzata sia in studi genetici sia come fonte di geni utili per il miglioramento genetico, con molta probabilità a causa alla sua più recente scoperta. Di qui l’estremo interesse al suo utilizzo, come parentale selvatico, per studi di analisi QTL.

A tale riguardo, il primo studio è stato quello condotto da Fulton *et al.* (2000) sulla popolazione AB derivata dall’incrocio *S. lycopersicum* (cv. E6203) x *S. neorickii* (acc. LA2133). In questo studio, sono state analizzate 170 piante BC<sub>2</sub> con 133 marcatori molecolari (la maggior parte dei quali RFLP), e circa 170 famiglie BC<sub>3</sub> sono state poi allevate in prove di campo replicate in tre differenti località e analizzate per 30 caratteri agronomici di interesse. L’analisi QTL ha permesso il mappaggio di 199 QTL e, per il 70% dei caratteri, è stato trovato almeno un QTL in corrispondenza del quale l’allele di *S. neorickii* risultava associato ad un effetto agronomico positivo, nonostante il

fenotipo di *S. neorickii* fosse nel suo complesso inferiore a quello del parentale coltivato (Fulton *et al.* 2000).

Alla luce di quanto evidenziato finora, è possibile affermare che ulteriori progressi nel breeding del pomodoro saranno perseguibili attraverso la combinazione, in varietà di élite, di QTL favorevoli identificati in nuove accessioni di specie selvatiche, analizzate con il metodo dell'analisi AB-QTL e/o con quello delle popolazioni di IL.

## **7. MAS e “QTL pyramiding” in pomodoro**

Il “QTL pyramiding” è una strategia molto efficace per il miglioramento genetico delle colture di interesse agrario. Questa strategia si basa sulla combinazione di QTL favorevoli tramite incrocio tradizionale utilizzando i marcatori molecolari. Una volta che i QTL desiderati vengono identificati, una strategia di “QTL pyramiding” comporta l'uso di NIL che contengono un solo QTL target. Le linee NIL-QTL sono prodotte mediante reincrocio e MAS. Una linea parentale che porta il QTL desiderato è reincrociata con il parentale ricorrente che ne è sprovvisto. Successivamente, una linea che porta solo una regione bersaglio per il QTL, derivante dalla linea madre nel background genetico del parentale ricorrente, verrà selezionata mediante MAS.

Le NILs possono essere utilizzate per valutare con precisione l'effetto di ogni singolo QTL. Una volta che i QTL con effetti importanti sono identificati in questo modo, le linee NIL-QTLs sono incrociate allo scopo di “piramidare” due o più QTL nello stesso background genetico.

La validità dell'approccio del “Pyramiding” di QTL per il miglioramento delle colture è stato dimostrato ampiamente in riso (Ashikari e Matsuoka 2006). Per questa coltura, la produzione elevata di granella e la ridotta dimensione della pianta sono entrambi caratteristiche importanti. L'analisi QTL condotta sulla progenie di un incrocio intraspecifico di riso ha permesso l'identificazione di un QTL per il numero di cariossidi (*Gn1*) ed un altro per la dimensione della pianta (*Ph1*), e due linee quasi isogeniche, la NIL-*Gn1* e la NIL-*Ph1* sono state selezionate in quanto portatrici, rispettivamente, del QTL che incrementa il numero di cariossidi e di quello che riduce la taglia della pianta. Per combinare entrambi gli effetti fenotipici positivi in un'unica linea, le due linee sono state incrociate e mediante MAS è stata ottenuta la linea isogenica, contenente entrambi i QTL, NIL-*Gn1+Ph1*, nel background genetico della cultivar di riso “Koshihikari”. Questa linea ha mostrato incrementi della produzione di granella del 23% ed una riduzione della dimensione della pianta del 20% rispetto al controllo.

In pomodoro, un esempio dell'utilità di questa strategia è lo studio condotto da Gur e Zamir nel 2004 in cui una IL con introgressioni multiple (IL789) è stata sviluppata trasferendo, dall'accessione LA0716 di *S. pennellii* (tollerante alla siccità) nel background genetico del parentale ricorrente M82, tre regioni genomiche indipendenti influenzanti la produzione. Gli ibridi risultanti mostravano un incremento di produzione del 50% rispetto al migliore ibrido commerciale di pomodoro (BOS3155), usato come controllo, quando testati in diversi ambienti e regimi di irrigazione. E' importante sottolineare che il trasferimento di introgressioni di *S. pennellii* nel background genetico di varietà di pomodoro da industria ha portato allo sviluppo dell'ibrido AB2, che è tuttora una varietà leader in California (Lippman *et al.* 2007).

Questi risultati dimostrano che l'uso del "QTL pyramiding", associato all'utilizzo delle specie selvatiche, può migliorare la stabilità della produzione in diversi ambienti e permettere ai breeder di proseguire con successo nel lavoro di miglioramento genetico delle specie agrarie.

## **8. Obiettivi della tesi**

Il presente lavoro di dottorato s'inserisce in una collaborazione tra il DISSPAPA (Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta, dell'Ambiente e delle Produzioni Animali) dell'Università degli Studi di Napoli Federico II, il CNR - Istituto di Genetica Vegetale, Portici ed il "Department of Plant Breeding and Genetics" della Cornell University, Ithaca, N.Y., USA, ed è stato svolto nell'ambito dei seguenti progetti: i) Progetto EU-SOL "*High Quality Solanaceous crops for consumers, processors and producers by exploration of natural biodiversity*" del CNR - IGV, Portici, finanziato dall'Unione Europea, nell'ambito del VI programma quadro (<http://www.eu-sol.net>) e ii) Progetto GenoPOM, finanziato dal MIUR, "*Laboratorio di genomica per l'innovazione e la valorizzazione della filiera pomodoro*" del DISSPAPA dell'Università degli Studi di Napoli Federico II e del CNR-IGV, Portici.

L'obiettivo generale del lavoro di dottorato è stato l'identificazione di QTL legati ad importanti caratteri d'interesse agronomico in una popolazione di linee d'introgressione (IL) della specie selvatica *S. habrochaites* (acc. LA1777) nel background genetico di *S. lycopersicum* (cv. E6203) e in una popolazione di "Advanced Backcross" (AB) di *S. lycopersicum* x *S. habrochaites* (acc. LA1721). Lo scopo di questo studio è quello di facilitare l'uso del germoplasma selvatico di *Solanum* sect. *Lycopersicon* per l'identificazione ed il clonaggio di QTL per caratteri d'interesse

agronomico, ed il suo impiego in programmi di breeding assistito per lo sviluppo di nuove varietà dotate di caratteristiche superiori.

Per il raggiungimento di quest'obiettivo, nell'ambito di questa tesi, sono stati affrontati i seguenti punti:

1. sviluppo assistito da marcatori molecolari di nuove IL di *S. habrochaites* (acc. LA1777) nel background genetico di *S. lycopersicum* (cv. E6203) contenenti singole introgressioni della specie selvatica e/o introgressioni di minore dimensione ("pulite"), in grado di migliorare la risoluzione della popolazione utile per l'analisi QTL;

2. analisi QTL delle IL di *S. habrochaites* (acc. LA1777) e della popolazione di AB di *S. lycopersicum* x *S. habrochaites* (acc. LA1721) per l'identificazione di loci, associati ad importanti aspetti agronomici e qualitativi del pomodoro.



# CAPITOLO I

## **Analisi QTL per caratteri agronomici in linee di introgressione (IL)**

### **di *Solanum habrochaites* LA1777**

#### **1.1 Introduzione**

Numerosi studi hanno dimostrato l'importanza delle popolazioni di linee di introgressione (IL) derivate da incroci interspecifici, o "Exotic libraries", per l'identificazione, l'uso ed il clonaggio di QTL di origine selvatica anche per caratteri per i quali il parentale selvatico presenta un fenotipo sfavorevole rispetto al pomodoro coltivato (Zamir 2001; Lippman *et al.* 2007; Grandillo *et al.* 2008, 2011a).

Per il pomodoro, la prima popolazione di IL è stata quella di *S. pennellii* LA0716 nel background genetico della varietà da industria M82 prodotta dal Prof. D Zamir, Hebrew University (Eshed e Zamir 1995). I numerosi successi ottenuti dall'uso di questa libreria di IL negli studi di base ed in campo applicativo hanno spinto la comunità scientifica ad investire nella costituzione di nuove "Exotic libraries" prodotte a partire da altre specie selvatiche del pomodoro.

In particolare, per la specie selvatica *S. habrochaites* (acc. LA1777), presso il laboratorio del Prof. SD Tanksley della Cornell University, sono state prodotte 99 IL e BCRIL di *S. habrochaites* (acc. LA1777) nel background genetico della cultivar da industria E6203, a partire dalla popolazione utilizzata per l'analisi "Advanced Backcross QTL" (Monforte e Tanksley 2000a).

Questa popolazione, ancorata a 90 marcatori RFLP, presentava diverse regioni non coperte da introgressioni della specie selvatica (regioni "gap"), e molte delle linee risultavano contenere introgressioni multiple di *S. habrochaites* LA1777 (Tripodi 2007; Di Dato 2009).

Pertanto, allo scopo di migliorare questa popolazione, nell'ambito del progetto europeo "High quality Solanaceous crops for consumers, processors and producers by exploration of natural biodiversità" (EU-SOL, <http://www.eu-sol.net>) nel laboratorio della Dr. Silvana Grandillo del CNR-IGV, Portici, è stato prodotto un nuovo set di IL di *S. habrochaites* LA1777 contenenti singole introgressioni, ed in grado di assicurare una migliore copertura del genoma del parentale selvatico (Tripodi 2007; Di Dato 2009). Per l'ottenimento delle IL è stato necessario incrociare molte delle linee inizialmente disponibili con il parentale coltivato in modo da ottenere le popolazioni segreganti IL-F<sub>2</sub> o BCRIL-F<sub>2</sub> (di seguito indicate come famiglie F<sub>2</sub>), mentre per coprire le regioni "gap" è stato necessario ricorrere all'analisi di generazioni di reincrocio (BC), partendo dalle BC<sub>1</sub> e BC<sub>2</sub>. Inoltre, questo nuovo set di IL è stato ancorato a circa 130 marcatori molecolari basati sulla PCR, quali i COSII, che oltre a favorire il lavoro di "marker assisted selection" (MAS), offrono anche il vantaggio di realizzare analisi comparative con altre specie Asteridi.

Nell'ambito di questa tesi, è continuato il lavoro di MAS per l'ottenimento di alcune IL *S. habrochaites* (acc. LA1777) in grado di coprire alcune regioni "gap", ed è stata condotta la caratterizzazione fenotipica in prove di campo replicate di 48 e 66 IL, rispettivamente negli anni 2010 e 2011, presso l'Azienda Sperimentale di Battipaglia (SA) del CRA-ORT.

L'attività di ricerca della presente tesi è stata svolta presso il DISSPAPA (Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta, dell'Ambiente e delle Produzioni Animali) dell'Università degli Studi di Napoli Federico II ed il CNR- Istituto di Genetica Vegetale, sezione di Portici CNR-IGV).

Questa attività di ricerca ha usufruito dei seguenti finanziamenti: progetto europeo "High quality Solanaceous crops for consumers, processors and producers by exploration of natural biodiversità" (EU-SOL, <http://www.eu-sol.net>), del CNR-IGV di Portici (responsabile scientifico Dr. Silvana Grandillo), e del Progetto GenoPOM, finanziato dal MIUR, "Laboratorio di genomica per l'innovazione e la valorizzazione della filiera pomodoro" del DISSPAPA e del CNR-IGV.

## 1.2 Materiali e metodi

### 1.2.1 Materiale vegetale

Nell'ambito di questa tesi è stata condotta l'analisi molecolare di famiglie F<sub>2</sub> e BC, previamente costituite presso il laboratorio della Dr. S. Grandillo del CNR-IGV di Portici (NA) (Di Dato 2009), con marcatori PCR in grado di evidenziare polimorfismi co-dominanti tra i parentali *S. habrochaites* (acc. LA1777) e *S. lycopersicum* (cv. E6203) (Tripodi 2007; Di Dato 2009).

Tutte le famiglie F<sub>2</sub> e BC sono state seminate nel 2010 presso le serre del DiSSPAPA della Facoltà di Agraria di Portici (NA) e le analisi molecolari sono state effettuate presso i laboratori del CNR-IGV, Portici.

### 1.2.2 Analisi molecolare

L'estrazione del DNA è stata realizzata a partire dal tessuto fogliare di piantine di 3-4 settimane allevate in serra, secondo il protocollo di Fulton e collaboratori (1995).

Per l'analisi genotipica sono stati utilizzati marcatori molecolari CAPS "Cleaved Amplified Polymorphic Sequence" e COSII "Conserved Ortholog Set II" (Wu *et al.* 2006).

Le reazioni di PCR sono state eseguite in un volume totale di 25 µL, contenente 50 ng di DNA "templato", 2,5 pmol di ogni primer "forward" e "reverse", dNTP ad una concentrazione di 0,2 mM, 2,5 µL di tampone PCR 10X e 0,2 Unità dell'enzima *Taq* polimerasi. La reazione di amplificazione per i primer CAPS e per i "primer Universali" dei marcatori COSII consisteva di un'iniziale denaturazione per 5 min. a 94°C, seguita da 35 cicli di amplificazione con denaturazione a 94°C per 60 sec., "annealing" a 55°C per 90 sec. ed elongazione a 72°C per 2 min. Alla fine del 35° ciclo è stato effettuato un ulteriore ciclo a 72°C per 8 min. Dopo l'amplificazione, i prodotti PCR sono stati visualizzati mediante elettroforesi su gel di agarosio all'1% in buffer TAE 1X, effettuata utilizzando un voltaggio di 100V per circa un'ora a temperatura ambiente. Per i marcatori CAPS, i prodotti dell'amplificazione sono stati, in seguito, sottoposti a digestione enzimatica con endonucleasi di restrizione specifiche. Per ogni campione sono stati utilizzati, in un volume finale di 15 µL, 10 µL di DNA amplificato, 1,5 µL di tampone 10X specifico dell'enzima usato e 0,2 µL del relativo enzima di restrizione (10 U/µL). La reazione è stata incubata alla temperatura appropriata per 2-3 ore e l'individuazione dei polimorfismi dei campioni digeriti è stata effettuata mediante elettroforesi su gel di agarosio al 2%.

### 1.2.3 Valutazione fenotipica

Al fine di identificare QTL per i caratteri che controllano la produzione, le caratteristiche morfologiche e la qualità della bacca di pomodoro è stato utilizzato un subset di 48 IL e di 66 IL di *S. habrochaites* (acc. LA1777) in *S. lycopersicum* (cv. E6203), rispettivamente nell'anno 2010 e 2011, con 47 IL in comune nei due anni di prova. Nel loro insieme le 48 IL testate nel primo anno di prova rappresentavano circa il 75% del genoma della specie selvatica, mentre per le 66 IL del secondo anno di prova la copertura del genoma era pari a circa l'80%. Il nome di ciascuna IL è definito dall'abbreviazione di *S. habrochaites* (SH) seguita dal numero di cromosoma contenente l'introggressione e da lettere minuscole che distinguono le diverse linee dello stesso cromosoma.

Con riferimento al primo anno di prova (2010), sono stati seminati, a fine Marzo, in vassoi alveolari di polistirolo riempiti di un miscuglio di torba e vermiculite, 30 semi di ciascuna IL e 100 semi della cultivar controllo (E6203). Dopo l'allevamento in vivaio per 40 giorni, il trapianto è stato effettuato in campo presso l'Azienda Sperimentale di Battipaglia del CRA – Centro di Ricerche per l'Orticoltura. Le piante sono state allevate per fila singola, pacciamata con film PE nero, con sesto di impianto di 0,50 m (sulla fila) x 1,70 m (interfila), per una densità d'investimento di 11.764 piante/ha. Prima del trapianto il terreno è stato geodisinfectato con Geort 50 (metam sodium biidrato puro), in fertirrigazione sotto il telo pacciamante, alla dose di 830 l/ha. L'accrescimento determinato dei genotipi non ha reso necessario il tutoraggio delle piante, inoltre, sono state utilizzate le agrotecniche tipiche della zona.

La sperimentazione è stata effettuata adottando un disegno sperimentale completamente randomizzato che ha previsto 10 piante per ciascuna delle 48 IL e 50 piante per il controllo (cv. E6203): in totale, quindi, sono state allevate 530 piante. La varietà York (Nunhems) è stata impiantata ai lati ed alle estremità delle file singole, per eliminare l' "effetto bordo".

La raccolta è stata effettuata tra il 9 Agosto ed il 13 Agosto, quando i frutti della cv. controllo avevano raggiunto il 100% di maturazione.

Su ciascuna pianta sono stati misurati i seguenti caratteri: *peso della parte epigea della pianta* (in kg) (**PW**), *produzione totale* (in kg) (**TY**) e *peso della produzione commerciale* (in kg) (**RY**).

Per ciascuna pianta è stato raccolto un campione rappresentativo di 20 frutti maturi; in totale sono stati sottoposti ad analisi qualitative circa 10.600 bacche mature di pomodoro.

Dei 20 frutti campionati per ogni pianta, 10 sono stati utilizzati per misurare i seguenti caratteri: *peso medio del frutto* (in g) (**FW**), *diametro polare* (in cm) (**L**) e *diametro equatoriale* (in

cm) (**D**). Cinque frutti sono stati utilizzati per valutare: *colore esterno* (**EC**) e, tagliando trasversalmente le bacche, *colore interno* (**IC**) (usando una scala visiva da 1 = colore chiaro tendente al giallo a 5 = colore rosso intenso), *spessore del pericarpo* (**PER**) (utilizzando una scala visiva da 1 = minimo a 3 = massimo) e *scatolatura del frutto* (**PUFF**) (utilizzando una scala visiva da 1 = poco scatolato a 3 = molto scatolato). Su altri 5 frutti sono stati valutati: *contenuto in solidi solubili del frutto* (**BRX**), con un rifrattometro automatico termocompensato alla temperatura di 20 °C ed espresso in °Brix, ed il *pH* (**pH**), misurato con un pHmetro Mettler.

Dai dati ottenuti, sono stati ricavati i seguenti caratteri: l'indice di forma del frutto (**FS**), dato dal rapporto tra diametro polare (L) e diametro equatoriale (D) del frutto (dove valori maggiori di 1 indicano una forma allungata, valori minori forma oblata, e valori vicini all'unità frutti di forma rotondeggiante) e la *produzione di solidi solubili* data dal prodotto RY x BRX (**BRY**). In pomodoro, come in molte altre colture, esiste una correlazione negativa tra produzione e parametri qualitativi, quali ad esempio il contenuto in solidi solubili. Pertanto, il carattere derivato BRY costituisce una migliore stima del contenuto in solidi solubili prodotti per unità di superficie ed è direttamente correlata alla quantità di prodotto trasformato (es. concentrato di pomodoro) che può essere prodotto da ciascun genotipo. Un genotipo con elevata BRY sarà particolarmente interessante per l'elevata resa industriale, a parità di produzione.

Inoltre, sempre sulla base dei dati rilevati, sono stati ricavati i caratteri: *biomassa della parte epigea* (**BM**) (in kg), ottenuto dalla somma della produzione totale e del peso della pianta (TY+PW) ed *indice di raccolta* (**HI**), ottenuto dal rapporto TY/(PW+TY).

Infine, è stato determinato il *peso di 100 semi* (in gr) (**SW**), dopo estrazione di questi da 5 bacche mature (già utilizzate per la valutazione del pH e del contenuto in solidi solubili), lavaggio e asciugatura a 40°C fino a peso costante.

Nel secondo anno di prova (2011), le 66 IL sono state seminate, allevate e confrontate presso lo stesso sito di coltivazione, adottando i medesimi criteri di allevamento dell'anno precedente. In totale, per quest'anno di sperimentazione, sono state allevate 730 piante.

Il trapianto è stato effettuato il 27 aprile, mentre la raccolta si è protratta dal 27 luglio al 4 agosto. I rilievi morfologici, produttivi e qualitativi hanno riguardato i seguenti parametri: *peso della parte epigea della pianta* (in kg) (**PW**), *produzione totale* (in kg) (**TY**), *produzione commerciale* (in kg) (**RY**), il *peso medio del frutto* (in g) (**FW**), *diametro polare* (in cm) (**L**), *diametro equatoriale* (in cm) (**D**), *colore esterno* (**EC**) ed *interno* (**IC**) del frutto, *spessore del pericarpo* (**PER**), *contenuto in solidi solubili del frutto* (**BRX**), *scatolatura del frutto* (**PUFF**),

indice di forma del frutto (**FS**), produzione di solidi solubili (in kg) (**BRY**), biomassa della parte epigea (in kg) (**BM**), indice di raccolta (**HI**).

#### **1.2.4    Analisi statistica dei dati**

L'analisi statistica dei dati ottenuti dagli esperimenti di campo è stata condotta utilizzando il programma JMP v.7.0 per Windows (SAS Institute, 2007). I valori medi dei parametri misurati sulle IL di *S. habrochaites* sono stati confrontati con quelli del controllo *S. lycopersicum* cv. E6203 utilizzando il test di Dunnett  $p < 0,05$  (Dunnett 1955).

## 1.3 Risultati

### 1.3.1 Analisi molecolare

#### 1.3.1.1 Analisi molecolare delle popolazioni F<sub>2</sub> derivate dalle IL e BCRIL di *S. habrochaites* LA1777

Per lo sviluppo delle nuove IL di *S. habrochaites* contenenti singole introgressioni della specie selvatica e/o introgressioni di minore dimensione, si è reso necessario incrociare le IL o BCRIL originarie con il parentale ricorrente (cv. E6203) per costituire generazioni F<sub>1</sub> dalle quali sono state ottenute per autofecondazione le relative famiglie F<sub>2</sub>, successivamente analizzate; in totale sono state seminate nove progenie F<sub>2</sub>, pari a 95 piante (**Tab. 1**).

Ciascuna famiglia è stata genotipizzata utilizzando i marcatori molecolari specifici delle regioni contenenti le introgressioni di *S. habrochaites*. L'analisi molecolare, condotta utilizzando un numero di marcatori variabile da 3 a 10 per famiglia, non ha permesso di selezionare nuove IL rispetto a quelle già a disposizione, a causa della mancata ricombinazione tra i marcatori testati.

**Tab. 1.** Popolazioni F<sub>2</sub> utilizzate per la MAS di nuove IL di *S. habrochaites* (acc. LA1777), con indicati i numeri di pedigree della famiglia F<sub>2</sub>, i relativi cromosomi contenenti l'introgressione per la quale è stata fatta selezione positiva, il numero di piante e marcatori analizzati ed il numero di piante selezionate.

Famiglia F <sub>2</sub> analizzata	Cromosoma	N° piante analizzate	N° marcatori analizzati	N° piante selezionate
10P2-3	1	16	8	2
09T10-11	2	11	10	3
09T14-3	2	4	9	2
09T10-12	2	3	10	0
10P9-3	6	4	3	1
10P14-2	8	8	5	1
09T35-7	8	17	3	7
09T36-13	10, 11	10	6	4
TA1554-1	11	22	7	8

### 1.3.1.2 Analisi molecolare delle popolazioni di reincrocio

Allo scopo di procedere alla copertura delle regioni “gap”, sono state analizzate una famiglia BC<sub>4</sub>, due famiglie BC<sub>5</sub>, cinque famiglie BC<sub>6</sub> nella prima generazione di autofecondazione (BC<sub>6</sub>F<sub>2</sub>) e 6 famiglie BC<sub>6</sub> nella seconda generazione di autofecondazione (BC<sub>6</sub>F<sub>3</sub>).

In totale sono state analizzate 83 piante ed utilizzati 73 marcatori; le piante selezionate sono risultate essere 40 (**Tab. 2**).

**Tab. 2.** Popolazioni di reincrocio (BC) utilizzate per la selezione di piante contenenti alleli della specie selvatica *S. habrochaites* (acc. LA1777) in corrispondenza delle regioni "gap", con indicato il relativo numero di pedigree, di numero di piante e marcatori analizzati, il numero di piante selezionate e il cromosoma contenente l'introggressione per la quale è stata fatta selezione positiva.

Generazione BC	Popolazione BC di partenza	N° Pedigree	N° piante analizzate	N° marcatori analizzati	N° piante selezionate	Cromosoma con regione "gap"
BC <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	09T27-1 x E6203	10P1	3	8	0	1
BC <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	09T27-3 x E6203	10P2	6	8	1	1
BC <sub>5</sub>	09T3-1 x E6203	10P4	11	6	3	3
BC <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	08T224-7	10P9	4	6	2	6
BC <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	08T224-8	10P10	5	6	3	6
BC <sub>4</sub>	09T5-5/7 x E6203	10P11	3	3	2	7
BC <sub>5</sub>	08T236-11 x E6203	10P13	1	1	7	8
BC <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	09T6-7 x E6203	10P14	5	7	3	8
BC <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	08T225-10	10P16	7	5	3	9
BC <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	08T225-17	10P17	11	5	6	9
BC <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	08T225-12	10P18	8	5	4	9
BC <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	08T227-2	10P20	11	4	3	12
BC <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	08T226-1	10P21	4	6	1	12
BC <sub>2</sub> F <sub>3</sub>	08T226-11	10P22	4	3	2	12
<b>Totale</b>	-	-	<b>83</b>	<b>73</b>	<b>40</b>	-

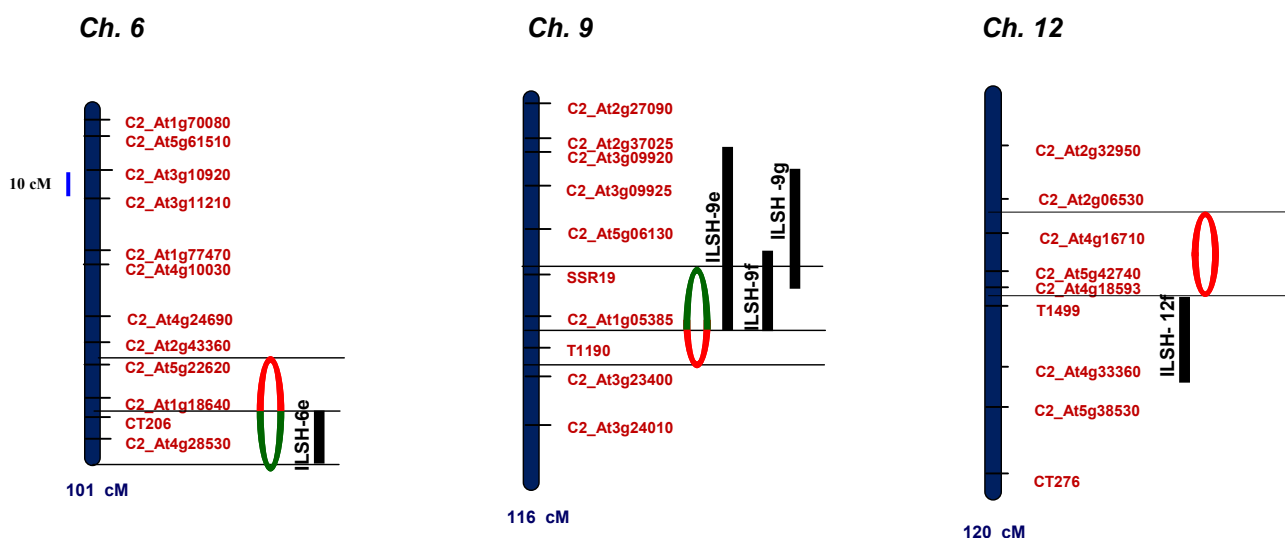
Tutte le linee selezionate sono state successivamente trapiantate e, qualora necessario, sono stati effettuati gli incroci con la cv. E6203 per continuare il programma di reincrocio assistito da marcatori molecolari. Per i cromosomi 6 e 9, la prima e la seconda generazione di autofecondazione delle BC<sub>6</sub> ha permesso di individuare 4 nuove linee di introgressione in grado di coprire parte dei rispettivi “gap”, mentre per il cromosoma 12 è stata individuata una nuova IL che tuttavia non copre



la regione “gap” (**Tab. 3, Fig. 3**). Il seme di queste linee è stato moltiplicato utilizzando “cages” nei campi sperimentali di Battipaglia nel 2011.

**Tab. 3.** Lista delle nuove IL di *S. habrochaites* (acc. LA1777) nel background genetico di *S. lycopersicum* (cv. E6203), sviluppate mediante MAS delle popolazioni di reincrocio (BC), con indicazione del numero di pedigree, del cromosoma contenente l'introgressione e delle relative dimensioni.

IL	N° pedigree	Cromosoma	Dimensione Introgressione (cM)
ILSH-6e	10P10-3	6	13,5
ILSH-9e	10P17-4/9	9	38,5
ILSH-9f	10P16-6	9	19,5
ILSH-9g	10P18-1	9	21,3
ILSH-12f	10P20-5	12	25



**Fig. 3.** Mappe genetiche dei cromosomi 6, 9 e 12 di pomodoro sulle quali sono riportate le regioni “gap” (ellissi) e le nuove IL sviluppate dall’analisi di popolazioni BC<sub>6</sub>. La zona verde dell’ellissi indica la parte della regione coperta dalle nuove linee, la parte in rosso indica la restante parte scoperta. Alla destra dei cromosomi sono riportate in cM le posizioni dei marcatori sulla base della mappa genetica EXPEN 2000 ([www.sgn.cornell.edu](http://www.sgn.cornell.edu)).

### 1.3.2 Analisi fenotipica delle IL di *S. habrochaites* LA1777

Per la caratterizzazione fenotipica, sono state utilizzate nel I anno di prova (2010) e nel II anno di prova (2011), rispettivamente 48 e 66 linee di introgressione (IL) “pulite” di *S. habrochaites* (acc. LA1777), a confronto con la varietà coltivata E6203. In entrambi gli anni le prove sono state condotte presso l’Azienda Sperimentale di Battipaglia (SA) del CRA-Centro di Ricerca per l’Orticoltura.

#### 1.3.2.1 Prova condotta nel 2010

Le medie e le deviazioni standard relative ai 15 caratteri valutati sul controllo (cv. E6203) e sulle 48 IL sono indicate nelle **Tab. 4a** e **5a**. Nelle **Tab. 4b** e **5b**, sono riportate, inoltre, le medie degli stessi caratteri espresse come variazione percentuale rispetto al controllo e sono messe in evidenza le variazioni statisticamente significative secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ). Nelle **Fig. 4** e **5**, è mostrata una rappresentazione grafica dei dati riportati nelle **Tab. 4b** e **5b**.

Di seguito sono riportati i risultati relativi a ciascun carattere.

*Peso medio dei frutti (FW).* Tutte le IL hanno mostrato una riduzione del peso medio dei frutti rispetto al controllo. Variazioni statisticamente significative sono state osservate per 16 IL; la linea ILSH-11c, del cromosoma 11, con un peso medio dei frutti (FW) di 42,3 g ha mostrato la maggiore riduzione (49,1%) rispetto al controllo caratterizzato da un FW di 83,1 g; mentre la linea ILSH-1n, del cromosoma 1, ha mostrato la minore riduzione percentuale (27,9%).

*Peso della parte epigea della pianta (PW).* Per questo carattere, tre IL hanno evidenziato differenze negative statisticamente significative, comprese tra -47,3% della ILSH-12b e -65,6% della ILSH-11c. L’unica variazione positiva è stata evidenziata dalla ILSH-5d (86,9%).

*Produzione totale (TY).* 20 IL hanno mostrato una riduzione della produzione totale rispetto al controllo (4,29 kg), in un range di variabilità compresa tra -25,7% per la ILSH-8d del cromosoma 8 e -79,8% della ILSH-3c del cromosoma 3.

*Produzione commerciale (RY).* Delle 48 IL testate, 10 hanno evidenziato una riduzione significativa del carattere. La ILSH-3c, analogamente ai caratteri produzione totale ed indice di raccolta, ha evidenziato la riduzione maggiore rispetto al controllo (79,3%). La linea ILSH-9a del cromosoma 9, invece, ha fatto registrare la riduzione percentuale minore (35,2%).

*Contenuto in solidi solubili o brix (BRX).* Sette IL hanno mostrato variazioni statisticamente significative rispetto al controllo (5,73 °Brix): per le ILSH-1a, ILSH-1e, ILSH-1h e ILSH-5d le variazioni sono state positive (da 14,8% a 15,6%); per le ILSH-1f, ILSH-2d e ILSH-7b sono state registrate variazioni negative, comprese tra -14,9% della ILSH-7b e -27,6% della ILSH-1f.

*Produzione di solidi solubili (BRY).* 10 IL hanno evidenziato variazioni significative rispetto al controllo. Di queste, solo per la ILSH-2a del cromosoma 2 è stato riscontrato un aumento (37,2%). Per tutte le altre IL, le riduzioni registrate sono variate nel range compreso tra -34,7% della ILSH-11c e -79,2% della ILSH-3c.

*Indice di raccolta (HI).* Per questo carattere, quattro IL hanno mostrato variazioni statisticamente significative rispetto al controllo (HI=0,84), e sono risultate tutte negative. La linea ILSH-1n del cromosoma 1 ha evidenziato la riduzione minore (12,7%), mentre la riduzione maggiore è stata osservata per la linea ILSH-3c del cromosoma 3 (49,3%).

*Biomassa della parte epigea (BM).* 20 linee hanno mostrato una biomassa statisticamente inferiore al controllo (5,17 kg). Le variazioni negative registrate sono risultate comprese tra 25,8% della ILSH-5b del cromosoma 5 e 60,6% della ILSH-7d del cromosoma 7.

*Spessore del pericarpo (PER).* Variazioni statisticamente significative sono state registrate per cinque IL, ed in tutti i casi è stato osservato un aumento dello spessore del pericarpo rispetto al controllo, variabile tra 28,7% della ILSH-1h del cromosoma 1 e 59,7% della ILSH-1e dello stesso cromosoma.

*Scatolatura del frutto (PUFF).* 22 IL si sono caratterizzate per una riduzione significativa della scatolatura, variabile nel range compreso tra 28,0% della ILSH-3c e 43,4% delle ILSH-11b, ILSH-4m e ILSH-1b. Solo per la ILSH-9a del cromosoma 9 è stato evidenziato un aumento significativo del carattere rispetto al controllo (38,9%).

*Colore esterno del frutto (EC).* 30 IL hanno presentato riduzioni statisticamente significative rispetto al controllo, con valori compresi tra 9,3% della ILSH-9c del cromosoma 9 e 50,5% della ILSH-2d del cromosoma 2.

*Colore interno del frutto (IC).* 24 IL hanno prodotto frutti con colore rosso significativamente inferiore al controllo coltivato. Un range di variazione molto ampio (tra -10,8% della ILSH-9c del cromosoma 9 e -63,9% della ILSH-2b del cromosoma 2) è stato registrato nell'espressione di questo carattere.

*Forma del frutto (FS).* 13 IL hanno presentato variazioni statisticamente significative rispetto al controllo. Per 11 IL è stata osservata una variazione negativa del rapporto L/D, ossia frutti più rotondi rispetto al controllo, da 6,0% della ILSH-1a a 19,9% della ILSH-10c. Solo per due IL è stato registrato un aumento dell'indice di forma del frutto (ILSH-5d con 11,4% e ILSH-1c con 7,5%).

*pH (pH).* Variazioni statisticamente significative sono state registrate per nove linee, ed in tutti i casi le variazioni sono state negative e di bassa entità (da 4,4% della ILSH-9c a 8,6% della ILSH-2b).

*Peso dei 100 semi (SW).* Per 38 IL sono state evidenziate variazioni statisticamente significative rispetto al controllo, ed in tutti i casi esse sono risultate negative (da -48,7% della ILSH-12a a -14,1% della ILSH-6a).

**Tab. 4a.** Medie e deviazioni standard dei caratteri relativi alla produttività valutati sulle 48 IL di *S. habrochaites* LA1777 e sul controllo, nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2010.

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>FW</b> (g)	<b>PW</b> (kg)	<b>TY</b> (kg)	<b>RY</b> (kg)	<b>BRX</b> (°B)	<b>BRY</b> (g)	<b>HI</b>	<b>BM</b> (kg)
cv. E6203		39	83,14 (14,00)	0,86 (0,52)	4,29 (0,85)	3,47 (0,84)	5,73 (0,41)	198,54 (49,86)	0,84 (0,08)	5,17 (1,07)
ILSH-1a	1	9-10	66,49 (10,84)	1,09 (0,37)	3,69 (0,59)	3,42 (0,62)	6,62 (1,03)	228,86 (64,74)	0,77 (0,07)	4,77 (0,63)
ILSH-1b	1	10	68,57 (9,15)	0,44 (0,14)	2,99 (0,98)	2,95 (1,02)	5,09 (0,59)	152,99 (70,95)	0,88 (0,04)	3,40 (1,14)
ILSH-1c	1	10	66,50 (8,48)	0,66 (0,16)	3,29 (0,70)	3,09 (0,77)	6,02 (0,48)	185,93 (46,46)	0,84 (0,03)	3,93 (0,81)
ILSH-1d	1	9-10	74,12 (17,17)	0,76 (0,15)	3,41 (0,96)	3,31 (0,99)	5,78 (0,41)	191,61 (59,06)	0,81 (0,06)	4,14 (1,02)
ILSH-1e	1	9	72,86 (7,96)	0,75 (0,26)	3,96 (0,62)	3,86 (0,64)	6,62 (0,24)	255,83 (45,94)	0,85 (0,05)	4,69 (0,8)
ILSH-1f	1	9	59,48 (8,73)	0,47 (0,14)	3,09 (0,89)	3,09 (0,90)	4,15 (0,75)	129,21 (49,44)	0,87 (0,04)	3,56 (0,86)
ILSH-1h	1	10	58,83 (7,86)	0,93 (0,26)	3,22 (0,93)	2,97 (0,61)	6,62 (0,60)	196,75 (41,59)	0,78 (0,02)	4,15 (0,85)
ILSH-1n	1	10	59,96 (15,54)	0,76 (0,27)	2,18 (0,56)	1,74 (0,78)	5,89 (0,48)	101,32 (46,08)	0,73 (0,1)	2,94 (0,83)
ILSH-2a	2	9-10	61,56 (19,26)	1,04 (0,45)	4,62 (2,01)	4,57 (2,04)	6,16 (1,02)	272,41 (124,93)	0,77 (0,21)	5,66 (0,82)
ILSH-2b	2	9-10	53,09 (2,30)	0,53 (0,17)	2,30 (0,50)	2,20 (0,53)	6,09 (0,45)	132,45 (24,43)	0,81 (0,04)	2,83 (0,8)
ILSH-2c	2	10	64,48 (4,66)	0,73 (0,19)	4,26 (0,87)	4,10 (0,89)	5,50 (0,84)	226,63 (70,96)	0,86 (0,02)	4,96 (0,79)
ILSH-2d	2	7-8	53,01 (4,98)	0,46 (0,11)	2,86 (0,77)	2,80 (0,74)	4,54 (0,28)	126,40 (30,33)	0,86 (0,03)	3,31 (0,77)
ILSH-3a	3	10	56,37 (8,88)	0,98 (0,21)	2,43 (0,6)	1,99 (0,88)	6,25 (0,38)	123,85 (55,96)	0,76 (0,1)	3,27 (0,76)
ILSH-3c	3	9	53,97 (6,52)	1,20 (0,42)	0,86 (0,33)	0,72 (0,28)	5,78 (0,90)	41,36 (18,02)	0,43 (0,14)	2,05 (0,74)
ILSH-3e	3	10	64,86 (15,87)	0,54 (0,38)	3,54 (1,59)	3,42 (1,45)	5,37 (0,50)	184,07 (77,61)	0,88 (0,05)	4,05 (1,93)
ILSH-4c	4	9	63,81 (11,94)	0,92 (0,34)	3,40 (1,41)	3,30 (1,37)	5,90 (0,63)	193,75 (78,4)	0,79 (0,03)	4,29 (1,67)
ILSH-4e	4	10	67,89 (5,90)	0,88 (0,25)	3,80 (1,12)	3,57 (1,16)	6,34 (0,54)	226,09 (75,98)	0,81 (0,04)	4,68 (1,30)
ILSH-4h	4	10	67,17 (6,48)	0,68 (0,26)	3,49 (0,79)	3,35 (0,75)	5,54 (0,39)	185,16 (41,36)	0,84 (0,05)	4,17 (0,94)

Tab. 4a - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>FW</b> (g)	<b>PW</b> (kg)	<b>TY</b> (kg)	<b>RY</b> (kg)	<b>BRX</b> (°B)	<b>BRY</b> (g)	<b>HI</b>	<b>BM</b> (kg)
ILSH-4m	4	8-10	64,83 (6,06)	0,74 (0,26)	3,64 (1,14)	3,61 (1,12)	5,74 (0,66)	207,91 (73,68)	0,84 (0,02)	4,37 (1,37)
ILSH-5a	5	9-10	69,69 (9,92)	0,89 (0,14)	4,27 (0,91)	3,96 (0,67)	5,77 (0,47)	227,60 (37,13)	0,83 (0,03)	5,15 (0,95)
ILSH-5b	5	10	67,46 (5,84)	0,65 (0,29)	3,27 (0,81)	3,13 (0,84)	5,29 (0,60)	165,81 (49,49)	0,85 (0,03)	3,84 (0,90)
ILSH-5c	5	9	70,76 (16,36)	0,94 (0,43)	2,97 (1,22)	2,71 (0,95)	5,96 (1,02)	156,92 (47,94)	0,76 (0,08)	3,89 (1,51)
ILSH-5d	5	8-10	52,20 (10,35)	1,62 (0,34)	3,27 (0,76)	1,53 (0,57)	6,58 (0,56)	100,93 (40,16)	0,67 (0,04)	4,88 (1,03)
ILSH-5e	5	10	70,76 (9,82)	0,71 (0,42)	4,16 (1,13)	4,11 (1,12)	5,54 (0,8)	224,29 (55,25)	0,87 (0,05)	4,87 (1,52)
ILSH-6a	6	10	67,41 (8,88)	0,58 (0,24)	3,44 (0,69)	3,17 (0,56)	5,33 (0,76)	167,66 (29,71)	0,86 (0,05)	4,02 (0,79)
ILSH-6c	6	10	65,23 (12,04)	0,77 (0,34)	4,33 (0,74)	4,13 (0,72)	5,39 (0,80)	223,53 (56,84)	0,87 (0,07)	5,03 (1,06)
ILSH-7a	7	9-10	46,97 (8,2)	0,80 (0,31)	3,24 (0,96)	2,98 (0,94)	5,88 (0,63)	177,10 (63,03)	0,79 (0,11)	4,04 (0,95)
ILSH-7b	7	8	67,38 (8,99)	0,75 (0,18)	3,62 (1,11)	3,43 (1,12)	4,88 (0,81)	164,17 (50,91)	0,85 (0,05)	4,27 (1,3)
ILSH-7d	7	6-8	47,58 (8,13)	0,89 (0,29)	1,15 (0,60)	0,90 (0,40)	6,46 (0,54)	57,67 (24,37)	0,55 (0,07)	2,04 (0,86)
ILSH-7f	7	8-9	48,73 (7,62)	0,75 (0,29)	3,13 (0,73)	2,96 (0,70)	5,36 (0,74)	158,66 (45,94)	0,81 (0,04)	3,88 (0,99)
ILSH-8a	8	8-9	68,20 (11,21)	0,68 (0,34)	3,46 (0,85)	3,05 (0,57)	5,24 (0,35)	159,78 (30,48)	0,84 (0,06)	4,14 (1,12)
ILSH-8c	8	10	78,91 (41,40)	0,53 (0,19)	3,14 (1,22)	3,08 (1,20)	5,22 (0,73)	158,06 (57,45)	0,86 (0,02)	3,64 (1,4)
ILSH-8d	8	10	55,89 (8,37)	0,62 (0,28)	3,19 (0,85)	2,99 (0,78)	5,04 (0,56)	151,03 (44,13)	0,84 (0,06)	3,79 (1,03)
ILSH-8e	8	9-10	70,63 (11,12)	0,73 (0,14)	4,07 (0,75)	3,33 (0,85)	5,56 (0,75)	185,67 (54,73)	0,85 (0,03)	4,79 (0,80)
ILSH-9a	9	7-10	71,00 (12,99)	0,90 (0,48)	2,55 (0,66)	2,25 (0,74)	6,06 (0,61)	134,18 (38,43)	0,75 (0,11)	3,46 (0,96)
ILSH-9b	9	9	63,87 (4,53)	0,62 (0,30)	3,29 (0,41)	3,17 (0,40)	5,64 (0,26)	178,90 (22,49)	0,86 (0,06)	3,85 (0,62)
ILSH-9c	9	10	49,02 (5,97)	0,60 (0,36)	3,03 (0,93)	2,63 (0,77)	5,65 (0,4)	149,87 (48,12)	0,85 (0,07)	3,62 (1,19)
ILSH-10b	10	8	70,17 (14,39)	0,78 (0,17)	2,64 (0,5)	2,08 (0,36)	6,51 (0,65)	135,19 (25,29)	0,77 (0,03)	3,42 (0,64)

**Tab. 4a** - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>FW</b> (g)	<b>PW</b> (kg)	<b>TY</b> (kg)	<b>RY</b> (kg)	<b>BRX</b> (°B)	<b>BRY</b> (g)	<b>HI</b>	<b>BM</b> (kg)
ILSH-10c	10	8	105,33 (104,56)	0,53 (0,35)	2,73 (0,95)	2,40 (0,82)	6,05 (0,35)	144,37 (46,40)	0,85 (0,07)	3,26 (1,23)
ILSH-10d	10	9	68,32 (7,92)	0,91 (0,28)	3,90 (0,95)	3,76 (0,96)	5,60 (0,53)	209,20 (50,74)	0,82 (0,03)	4,79 (1,21)
ILSH-10f	10	10	59,87 (7,19)	0,76 (0,37)	3,40 (0,86)	3,07 (0,79)	5,39 (0,54)	166,09 (49,3)	0,82 (0,05)	4,16 (1,13)
ILSH-10i	10	10	71,78 (8,69)	0,83 (0,42)	2,64 (0,76)	2,46 (0,86)	6,14 (0,53)	151,48 (53,37)	0,78 (0,13)	3,38 (0,78)
ILSH-11a	11	10	68,47 (38,30)	0,59 (0,18)	3,39 (0,91)	2,99 (0,81)	5,03 (0,63)	149,59 (41,6)	0,86 (0,05)	3,91 (1,04)
ILSH-11b	11	10	61,79 (5,19)	0,54 (0,22)	2,05 (0,84)	2,01 (0,84)	5,12 (0,55)	103,59 (49,25)	0,78 (0,10)	2,60 (0,91)
ILSH-11c	11	9-10	42,34 (7,61)	0,30 (0,15)	2,48 (0,62)	2,40 (0,66)	5,48 (0,56)	129,61 (31,99)	0,90 (0,06)	2,75 (0,67)
ILSH-12a	12	9-10	42,49 (9,14)	0,62 (0,31)	2,34 (0,78)	2,06 (0,87)	6,04 (0,48)	125,87 (54,84)	0,79 (0,11)	2,96 (0,91)
ILSH-12b	12	10	69,25 (6,22)	0,45 (0,32)	3,25 (1,05)	3,24 (1,04)	5,09 (0,57)	164,26 (55,64)	0,89 (0,05)	3,71 (1,34)
ILSH-12d	12	9-10	67,27 (10,93)	0,74 (0,34)	3,95 (0,99)	3,92 (1,01)	5,24 (0,44)	206,88 (60,77)	0,84 (0,09)	4,69 (1,01)

FW = peso medio del frutto, PW = peso della parte epigea della pianta, TY = produzione totale, RY = produzione commerciale, BRX = contenuto in solidi solubili o brix, BRY = produzione di solidi solubili, HI = indice di raccolta, BM = biomassa della parte epigea



**Tab. 4b.** Medie dei caratteri relativi alla produttività valutati sulle 48 IL di *S. habrochaites* nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2010, espresse come variazione percentuale rispetto al controllo.

Linea	Crom.	FW %	PW %	TY %	RY %	BRIX %	BRY %	HI %	BM %
ILSH-1a	1	-20,02	26,87	-14,01	-1,50	15,57	15,29	-7,87	-7,72
ILSH-1b	1	-17,53	-49,10	-30,23	-15,02	-11,19	-22,93	5,06	-34,19
ILSH-1c	1	-20,01	-23,26	-23,36	-11,07	5,06	-6,33	-0,46	-24,06
ILSH-1d	1	-10,85	-11,11	-20,44	-4,58	0,83	-3,47	-3,13	-19,84
ILSH-1e	1	-12,36	-12,40	-7,77	11,24	15,47	28,88	0,66	-9,22
ILSH-1f	1	-28,46	-45,64	-27,97	-11,02	-27,57	-34,91	3,15	-31,24
ILSH-1h	1	-29,25	8,14	-24,94	-14,29	15,53	-0,88	-7,64	-19,81
ILSH-1n	1	-27,88	-11,63	-49,23	-49,91	2,79	-48,96	-12,66	-43,17
ILSH-2a	2	-25,95	20,93	7,69	31,67	7,43	37,23	-8,10	9,48
ILSH-2b	2	-36,14	-38,08	-46,33	-36,60	6,24	-33,27	-3,17	-45,21
ILSH-2c	2	-22,45	-14,99	-0,75	18,03	-4,01	14,17	2,38	-4,15
ILSH-2d	2	-36,24	-46,84	-33,40	-19,31	-20,72	-36,32	2,80	-36,06
ILSH-3a	3	-32,20	14,21	-43,26	-42,71	9,08	-37,61	-9,86	-36,71
ILSH-3c	3	-35,08	39,79	-79,85	-79,31	0,83	-79,16	-49,33	-60,28
ILSH-3e	3	-21,99	-36,98	-17,58	-1,56	-6,28	-7,27	4,75	-21,59
ILSH-4c	4	-23,25	7,27	-20,86	-4,90	2,97	-2,40	-6,37	-16,97
ILSH-4e	4	-18,34	2,84	-11,42	2,91	10,72	13,90	-3,75	-9,43
ILSH-4h	4	-19,21	-20,47	-18,65	-3,34	-3,32	-6,72	-0,18	-19,42
ILSH-4m	4	-22,03	-14,47	-15,15	3,94	0,25	4,74	-0,58	-15,45
ILSH-5a	5	-16,18	3,26	-0,56	14,18	0,70	14,66	-1,72	-0,46
ILSH-5b	5	-18,86	-24,19	-23,68	-9,80	-7,68	-16,47	1,27	-25,80
ILSH-5c	5	-14,89	8,72	-30,77	-22,05	4,06	-20,95	-9,71	-24,71
ILSH-5d	5	-37,21	87,86	-23,80	-55,94	14,80	-49,15	-20,52	-5,52
ILSH-5e	5	-14,90	-17,44	-3,08	18,44	-3,32	12,99	3,04	-5,84
ILSH-6a	6	-18,92	-32,56	-19,72	-8,65	-6,98	-15,54	2,13	-22,17
ILSH-6c	6	-21,54	-10,08	1,00	19,08	-5,93	12,61	3,59	-2,77
ILSH-7a	7	-43,50	-6,46	-24,53	-13,99	2,58	-10,78	-5,65	-21,81
ILSH-7b	7	-18,96	-12,50	-15,68	-1,30	-14,92	-17,30	1,04	-17,36
ILSH-7d	7	-42,78	2,91	-73,19	-74,14	12,78	-70,95	-34,14	-60,64
ILSH-7f	7	-41,39	-12,66	-27,01	-14,83	-6,53	-20,07	-3,36	-24,91
ILSH-8a	8	-17,97	-20,93	-19,46	-12,03	-8,60	-19,51	0,26	-20,02
ILSH-8c	8	-5,09	-38,84	-26,71	-11,12	-8,90	-20,37	2,63	-29,52
ILSH-8d	8	-32,77	-27,44	-25,73	-13,78	-12,04	-23,91	0,43	-26,65
ILSH-8e	8	-15,05	-15,41	-5,22	-4,18	-2,92	-6,46	0,96	-7,42
ILSH-9a	9	-14,61	4,94	-40,50	-35,23	5,80	-32,40	-10,33	-33,17
ILSH-9b	9	-23,18	-28,24	-23,21	-8,60	-1,52	-9,88	2,55	-25,50
ILSH-9c	9	-41,05	-29,88	-29,46	-24,09	-1,40	-24,50	0,90	-30,04
ILSH-10b	10	-15,61	-9,30	-38,58	-40,06	13,66	-31,89	-8,13	-33,95
ILSH-10c	10	26,69	-38,18	-36,32	-30,74	5,58	-27,27	1,34	-36,88
ILSH-10d	10	-17,83	5,94	-9,04	8,23	-2,27	5,39	-2,78	-7,37
ILSH-10f	10	-27,99	-11,89	-20,75	-11,43	-5,95	-16,33	-2,09	-19,62
ILSH-10i	10	-13,67	-3,02	-38,41	-29,05	7,16	-23,69	-7,14	-34,58
ILSH-11a	11	-17,65	-31,16	-21,07	-13,95	-12,22	-24,64	2,81	-24,29
ILSH-11b	11	-25,68	-36,69	-52,14	-42,17	-10,61	-47,81	-7,11	-49,75
ILSH-11c	11	-49,08	-65,63	-42,29	-30,90	-4,40	-34,70	7,11	-46,74
ILSH-12a	12	-48,89	-27,67	-45,50	-40,58	5,41	-36,59	-5,67	-42,75
ILSH-12b	12	-16,71	-47,29	-24,16	-6,63	-11,19	-17,25	5,78	-28,30
ILSH-12d	12	-19,08	-14,19	-7,88	13,08	-8,55	4,22	-0,07	-9,28

FW = peso medio del frutto, PW = peso della parte epigea della pianta, TY = produzione totale, RY = produzione commerciale, BRX = contenuto in solidi solubili o brix, BRY = produzione di solidi solubili, HI = indice di raccolta, BM = biomassa della parte epigea  
In rosso sono indicate le variazioni statisticamente significative secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 4.** Rappresentazione grafica delle medie dei caratteri relativi alla produzione valutati sulle 48 IL di *S. habrochaites* LA1777 nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2010, espresse come variazione percentuale rispetto al controllo. Le barre in nero indicano una differenza statisticamente significativa secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ). FW = peso medio del frutto, PW = peso della parte epigea pianta, TY = produzione totale, RY = produzione commerciale, BRX = contenuto in solidi solubili o brix, BRY = produzione di solidi solubili, HI = indice di raccolta, BM = biomassa della parte epigea.

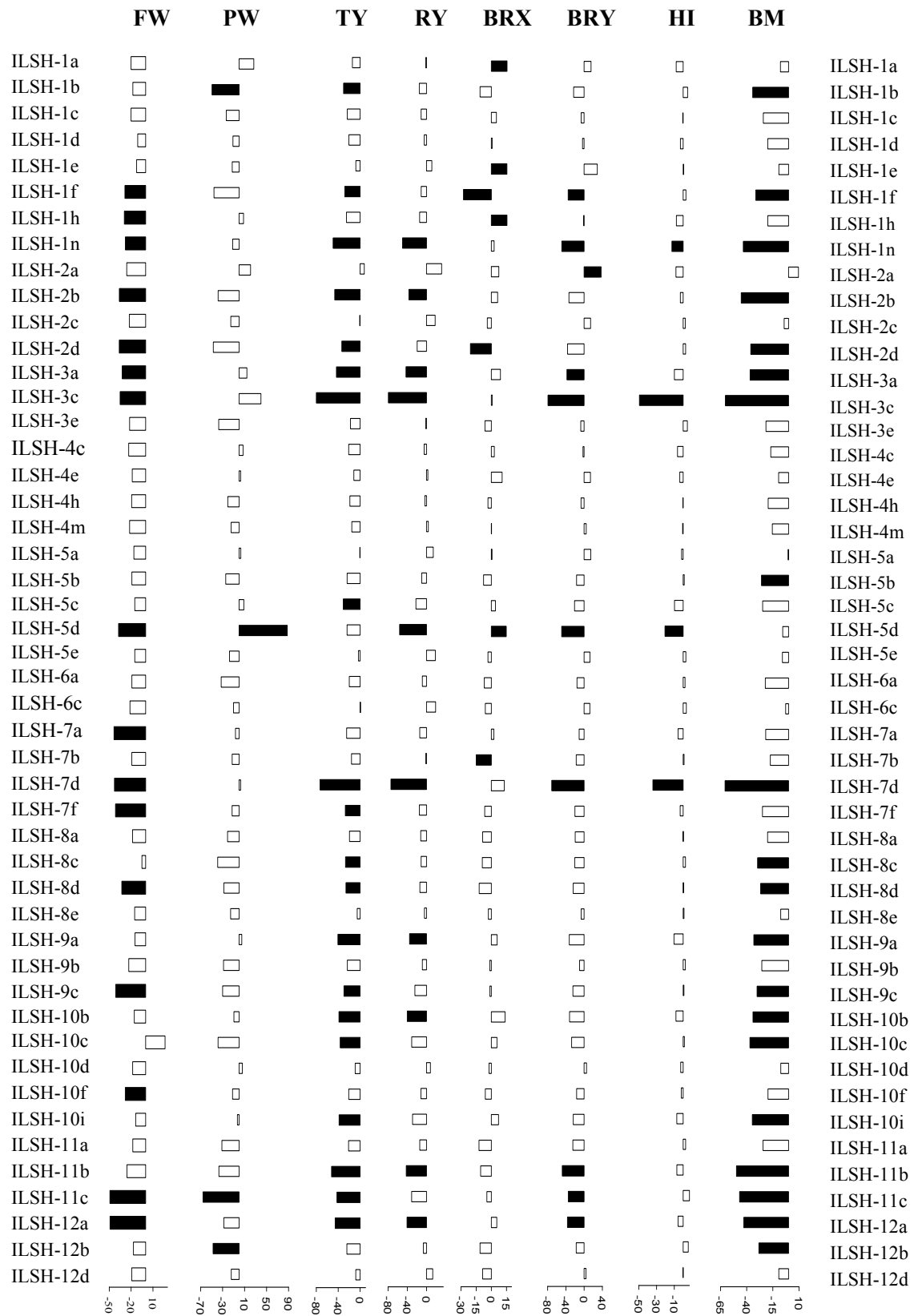


Fig. 4.

**Tab. 5a.** Medie e deviazioni standard dei caratteri fenotipici misurati alla raccolta e dei caratteri relativi alla qualità del frutto valutati sulle 48 IL di *S. habrochaites* LA1777 e sul controllo, nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2010.

Genotipo	Crom.	No. di repliche	PER (1-3)	PUFF (1-3)	EC (1-5)	IC (1-5)	FS (L/D)	pH	SW (g)
cv. E6203		39	1,67 (0,39)	2,16 (0,57)	3,75 (0,25)	3,81 (0,25)	1,15 (0,06)	4,41 (0,13)	0,341 (0,042)
ILSH-1a	1	9-10	2,39 (0,42)	1,67 (0,50)	3,94 (0,17)	4,00 (0,25)	1,08 (0,05)	4,54 (0,18)	0,317 (0,029)
ILSH-1b	1	9-10	1,78 (0,36)	1,22 (0,26)	3,06 (0,17)	3,22 (0,36)	1,16 (0,05)	4,34 (0,11)	0,246 (0,034)
ILSH-1c	1	8-10	2,05 (0,28)	2,10 (0,61)	3,55 (0,28)	3,85 (0,24)	1,07 (0,03)	4,68 (0,15)	0,252 (0,038)
ILSH-1d	1	9-10	1,94 (0,39)	2,22 (0,51)	3,44 (0,17)	3,67 (0,43)	1,13 (0,06)	4,48 (0,14)	0,310 (0,027)
ILSH-1e	1	9	2,67 (0,41)	1,92 (0,58)	2,67 (0,41)	2,92 (0,20)	1,24 (0,04)	4,50 (0,11)	0,281 (0,024)
ILSH-1f	1	9	1,63 (0,23)	1,50 (0,38)	3,06 (0,18)	3,06 (0,18)	1,15 (0,03)	4,42 (0,17)	0,220 (0,035)
ILSH-1h	1	9-10	2,15 (0,24)	1,65 (0,41)	3,00 (0,24)	3,25 (0,26)	1,17 (0,04)	4,45 (0,12)	0,253 (0,022)
ILSH-1n	1	10	2,10 (0,39)	1,35 (0,41)	2,80 (0,35)	2,80 (0,26)	1,13 (0,03)	4,13 (0,29)	0,290 (0,026)
ILSH-2a	2	9-10	1,94 (0,3)	1,61 (0,33)	3,56 (0,17)	3,61 (0,33)	1,08 (0,04)	4,29 (0,09)	0,273 (0,039)
ILSH-2b	2	9-10	1,88 (0,23)	1,38 (0,44)	1,88 (0,35)	1,38 (0,52)	0,99 (0,04)	4,03 (0,29)	0,319 (0,03)
ILSH-2c	2	9-10	1,94 (0,46)	1,39 (0,42)	3,78 (0,26)	3,94 (0,17)	1,11 (0,04)	4,27 (0,17)	0,282 (0,022)
ILSH-2d	2	7-8	1,57 (0,35)	1,50 (0,41)	1,86 (0,38)	1,86 (0,38)	1,05 (0,05)	4,14 (0,16)	0,277 (0,018)
ILSH-3a	3	10	1,45 (0,37)	1,75 (0,26)	3,30 (0,26)	3,30 (0,48)	1,20 (0,04)	4,41 (0,2)	0,281 (0,012)
ILSH-3c	3	9	1,39 (0,22)	1,56 (0,39)	3,44 (0,3)	3,56 (0,3)	1,19 (0,04)	4,41 (0,15)	0,293 (0,014)
ILSH-3e	3	10	1,60 (0,39)	1,85 (0,58)	3,80 (0,35)	3,70 (0,35)	1,03 (0,03)	4,35 (0,13)	0,254 (0,045)
ILSH-4c	4	9	1,50 (0,38)	1,94 (0,62)	3,75 (0,27)	3,69 (0,26)	1,07 (0,02)	4,19 (0,16)	0,259 (0,025)
ILSH-4e	4	9-10	1,78 (0,26)	1,28 (0,36)	3,83 (0,25)	4,06 (0,46)	1,19 (0,03)	4,24 (0,15)	0,278 (0,033)
ILSH-4h	4	10	1,75 (0,26)	1,80 (0,26)	3,65 (0,24)	3,70 (0,35)	1,17 (0,02)	4,31 (0,11)	0,309 (0,022)

**Tab. 5a** - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>PER (1-3)</b>	<b>PUFF (1-3)</b>	<b>EC (1-5)</b>	<b>IC (1-5)</b>	<b>FS (L/D)</b>	<b>pH</b>	<b>SW (g)</b>
ILSH-4m	4	8-10	1,89 (0,22)	1,22 (0,26)	3,72 (0,36)	3,94 (0,39)	1,06 (0,05)	4,26 (0,13)	0,237 (0,034)
ILSH-5a	5	9-10	2,40 (0,46)	2,00 (0,67)	3,30 (0,26)	3,70 (0,35)	1,12 (0,03)	4,39 (0,14)	0,262 (0,023)
ILSH-5b	5	8-10	1,95 (0,37)	1,35 (0,34)	3,25 (0,42)	3,55 (0,28)	1,20 (0,06)	4,36 (0,14)	0,280 (0,032)
ILSH-5c	5	9	1,81 (0,37)	2,13 (0,58)	3,25 (0,27)	3,19 (0,46)	1,12 (0,05)	4,34 (0,07)	0,259 (0,073)
ILSH-5d	5	8-10	1,83 (0,35)	1,72 (0,44)	3,39 (0,42)	3,44 (0,30)	1,28 (0,10)	4,31 (0,05)	0,308 (0,032)
ILSH-5e	5	9-10	2,00 (0,41)	1,90 (0,57)	3,75 (0,35)	3,80 (0,48)	1,11 (0,07)	4,37 (0,11)	0,231 (0,037)
ILSH-6a	6	10	1,95 (0,44)	2,65 (0,47)	3,10 (0,21)	3,25 (0,26)	1,15 (0,08)	4,28 (0,12)	0,293 (0,03)
ILSH-6c	6	10	1,80 (0,42)	1,95 (0,5)	2,95 (0,16)	3,10 (0,21)	1,17 (0,06)	4,29 (0,11)	0,244 (0,028)
ILSH-7a	7	9-10	1,33 (0,25)	1,50 (0,35)	3,11 (0,42)	3,33 (0,35)	1,13 (0,04)	4,38 (0,12)	0,237 (0,021)
ILSH-7b	7	8	1,75 (0,46)	1,50 (0,38)	3,19 (0,37)	3,19 (0,37)	1,12 (0,05)	4,35 (0,14)	0,296 (0,051)
ILSH-7d	7	6-8	1,88 (0,35)	2,06 (0,62)	3,56 (0,42)	3,50 (0,46)	1,12 (0,08)	4,16 (0,09)	0,338 (0,069)
ILSH-7f	7	8-9	1,67 (0,25)	1,33 (0,35)	3,06 (0,17)	3,22 (0,36)	1,18 (0,1)	4,42 (0,14)	0,249 (0,031)
ILSH-8a	8	8-9	2,00 (0,38)	2,63 (0,35)	2,50 (0,00)	2,56 (0,18)	1,10 (0,03)	4,47 (0,14)	0,246 (0,026)
ILSH-8c	8	10	1,70 (0,42)	1,50 (0,33)	3,30 (0,26)	3,30 (0,26)	1,12 (0,05)	4,30 (0,1)	0,275 (0,041)
ILSH-8d	8	9-10	1,85 (0,41)	1,75 (0,59)	3,35 (0,41)	3,50 (0,33)	1,15 (0,02)	4,31 (0,11)	0,289 (0,02)
ILSH-8e	8	9-10	2,13 (0,58)	1,44 (0,42)	3,31 (0,26)	3,50 (0,38)	1,11 (0,03)	4,27 (0,16)	0,267 (0,027)
ILSH-9a	9	7-10	1,94 (0,18)	3,00 (0,00)	3,44 (0,18)	3,19 (0,26)	1,09 (0,04)	4,15 (0,06)	0,281 (0,038)
ILSH-9b	9	9	1,86 (0,24)	2,29 (0,39)	3,36 (0,24)	3,36 (0,38)	1,17 (0,13)	4,31 (0,10)	0,264 (0,029)
ILSH-9c	9	9-10	1,90 (0,32)	1,50 (0,58)	3,40 (0,21)	3,40 (0,32)	1,05 (0,03)	4,21 (0,11)	0,243 (0,034)
ILSH-10b	10	8	1,88 (0,35)	2,00 (0,00)	2,94 (0,18)	3,25 (0,38)	1,21 (0,03)	4,35 (0,12)	0,329 (0,029)

**Tab. 5a** - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>PER</b> (1-3)	<b>PUFF</b> (1-3)	<b>EC</b> (1-5)	<b>IC</b> (1-5)	<b>FS</b> (L/D)	<b>pH</b>	<b>SW</b> (g)
ILSH-10c	10	8	1,67 (0,26)	2,67 (0,52)	2,83 (0,26)	2,83 (0,41)	0,92 (0,07)	4,39 (0,17)	0,297 (0,029)
ILSH-10d	10	9	1,94 (0,39)	2,22 (0,67)	3,94 (0,3)	3,89 (0,42)	1,10 (0,05)	4,34 (0,17)	0,299 (0,045)
ILSH-10f	10	10	2,00 (0,50)	1,39 (0,33)	3,61 (0,22)	3,94 (0,17)	1,15 (0,04)	4,33 (0,11)	0,261 (0,03)
ILSH-10i	10	8-10	1,70 (0,26)	1,65 (0,41)	2,95 (0,16)	3,25 (0,35)	1,14 (0,05)	4,48 (0,15)	0,326 (0,019)
ILSH-11a	11	10	2,05 (0,37)	1,75 (0,49)	3,35 (0,24)	3,70 (0,42)	1,16 (0,03)	4,31 (0,15)	0,212 (0,035)
ILSH-11b	11	9-10	2,00 (0,5)	1,22 (0,36)	3,33 (0,25)	3,67 (0,56)	1,11 (0,03)	4,43 (0,41)	0,220 (0,024)
ILSH-11c	11	9-10	1,67 (0,43)	1,28 (0,36)	3,78 (0,26)	3,78 (0,36)	0,99 (0,06)	4,15 (0,15)	0,231 (0,018)
ILSH-12a	12	9-10	2,17 (0,25)	1,28 (0,36)	3,50 (0,00)	3,10 (0,21)	1,15 (0,06)	4,28 (0,11)	0,175 (0,067)
ILSH-12b	12	10	1,78 (0,26)	1,44 (0,39)	3,17 (0,25)	3,06 (0,17)	1,13 (0,03)	4,46 (0,16)	0,278 (0,024)
ILSH-12d	12	9-10	1,85 (0,63)	2,30 (0,86)	3,00 (0,00)	3,15 (0,24)	1,09 (0,05)	4,42 (0,11)	0,272 (0,03)

PER = spessore del pericarpo, PUFF = sciolatura del frutto, EC = colore esterno del frutto, IC = colore interno del frutto, FS = forma del frutto; SW = peso dei 100 semi

**Tab. 5b.** Medie dei caratteri fenotipici misurati alla raccolta e dei caratteri relativi alla qualità del frutto, sulle 48 IL di *S. habrochaites* LA1777 nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2010, espresse come variazione percentuale rispetto al controllo.

Linea	Crom.	PER%	PUFF%	EC%	IC%	FS%	pH%	SW%
ILSH-1a	1	43,05	-22,84	5,19	4,99	-5,99	2,85	-7,19
ILSH-1b	1	6,45	-43,42	-18,52	-15,43	0,48	-1,59	-27,89
ILSH-1c	1	22,75	-2,78	-5,33	1,05	-7,30	6,08	-26,28
ILSH-1d	1	16,43	2,88	-8,15	-3,76	-1,45	1,61	-9,28
ILSH-1e	1	59,68	-11,27	-28,89	-23,45	7,54	2,08	-17,70
ILSH-1f	1	-2,69	-30,56	-18,33	-19,62	-0,22	0,14	-35,57
ILSH-1h	1	28,74	-23,61	-20,00	-14,70	1,91	0,91	-25,99
ILSH-1n	1	25,75	-37,50	-25,33	-26,51	-1,74	-6,35	-15,01
ILSH-2a	2	16,43	-25,41	-5,19	-5,22	-6,38	-2,65	-19,94
ILSH-2b	2	12,28	-36,34	-50,00	-63,91	-14,24	-8,59	-6,61
ILSH-2c	2	16,43	-35,70	0,74	3,53	-3,57	-3,15	-17,47
ILSH-2d	2	-5,90	-30,56	-50,48	-51,26	-8,82	-6,12	-18,84
ILSH-3a	3	-13,17	-18,98	-12,00	-13,39	4,43	-0,05	-17,76
ILSH-3c	3	-16,83	-27,98	-8,15	-6,68	3,04	0,10	-14,31
ILSH-3e	3	-4,19	-14,35	1,33	-2,89	-10,26	-1,34	-25,69
ILSH-4c	4	-10,18	-10,30	0,00	-3,22	-6,96	-5,07	-24,20
ILSH-4e	4	6,45	-40,84	2,22	6,45	3,86	-3,91	-18,50
ILSH-4h	4	4,79	-16,67	-2,67	-2,89	1,74	-2,34	-9,58
ILSH-4m	4	13,11	-43,42	-0,74	3,53	-7,83	-3,33	-30,53
ILSH-5a	5	43,71	-7,41	-12,00	-2,89	-3,04	-0,45	-23,30
ILSH-5b	5	16,77	-37,50	-13,33	-6,82	4,00	-1,11	-17,91
ILSH-5c	5	8,53	-1,62	-13,33	-16,34	-2,50	-1,50	-24,24
ILSH-5d	5	9,78	-20,27	-9,63	-9,59	11,40	-2,17	-9,71
ILSH-5e	5	19,76	-12,04	0,00	-0,26	-3,48	-1,02	-32,37
ILSH-6a	6	16,77	22,69	-17,33	-14,70	-0,39	-3,02	-14,11
ILSH-6c	6	7,78	-9,72	-21,33	-18,64	1,39	-2,83	-28,62
ILSH-7a	7	-20,16	-30,56	-17,04	-12,51	-2,13	-0,60	-30,64
ILSH-7b	7	4,79	-30,56	-15,00	-16,34	-2,83	-1,42	-13,38
ILSH-7d	7	12,28	-4,51	-5,00	-8,14	-2,61	-5,64	-1,06
ILSH-7f	7	-0,20	-38,27	-18,52	-15,43	2,61	0,23	-26,95
ILSH-8a	8	19,76	21,53	-33,33	-32,74	-4,46	1,30	-27,96
ILSH-8c	8	1,80	-30,56	-12,00	-13,39	-2,35	-2,49	-19,44
ILSH-8d	8	10,78	-18,98	-10,67	-8,14	0,00	-2,24	-15,23
ILSH-8e	8	27,25	-33,45	-11,67	-8,14	-3,26	-3,09	-21,71
ILSH-9a	9	16,02	38,89	-8,33	-16,34	-5,59	-5,84	-17,74
ILSH-9b	9	11,21	5,82	-10,48	-11,89	1,74	-2,30	-22,83
ILSH-9c	9	13,77	-30,56	-9,33	-10,76	-8,70	-4,44	-28,85
ILSH-10b	10	12,28	-7,41	-21,67	-14,70	4,84	-1,33	-3,69
ILSH-10c	10	-0,20	23,46	-24,44	-25,63	-19,86	-0,57	-13,10
ILSH-10d	10	16,43	2,88	5,19	2,07	-3,96	-1,51	-12,40
ILSH-10f	10	19,76	-35,70	-3,70	3,53	-0,10	-1,84	-23,66
ILSH-10i	10	1,80	-23,61	-21,33	-14,70	-0,78	1,59	-4,53
ILSH-11a	11	22,75	-18,98	-10,67	-2,89	0,87	-2,22	-37,80
ILSH-11b	11	19,76	-43,42	-11,11	-3,76	-3,57	0,38	-35,60
ILSH-11c	11	-0,20	-40,84	0,74	-0,85	-13,91	-5,82	-32,44
ILSH-12a	12	29,74	-40,84	-6,67	-18,64	-0,35	-2,95	-48,69
ILSH-12b	12	6,45	-33,13	-15,56	-19,80	-1,55	1,11	-18,49
ILSH-12d	12	10,78	6,48	-20,00	-17,32	-4,87	0,11	-20,34

PER = spessore del pericarpo, PUFF = scaturatura del frutto, EC = colore esterno del frutto, IC = colore interno del frutto,

FS = forma del frutto, SW = peso dei 100 semi

In rosso sono indicate le variazioni statisticamente significative secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 5:** Rappresentazione grafica delle medie relative ai caratteri fenotipici e di qualità valutati sulle 48 IL di *S. habrochaites* LA1777 nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2010, ed espresse come variazione percentuale rispetto al controllo. Le barre in nero indicano una differenza statisticamente significativa secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ). PER = spessore del pericarpo, PUFF = scatola del frutto, EC = colore esterno del frutto, IC = colore interno del frutto, FS = forma del frutto, pH = pH, SW = peso dei 100 semi.



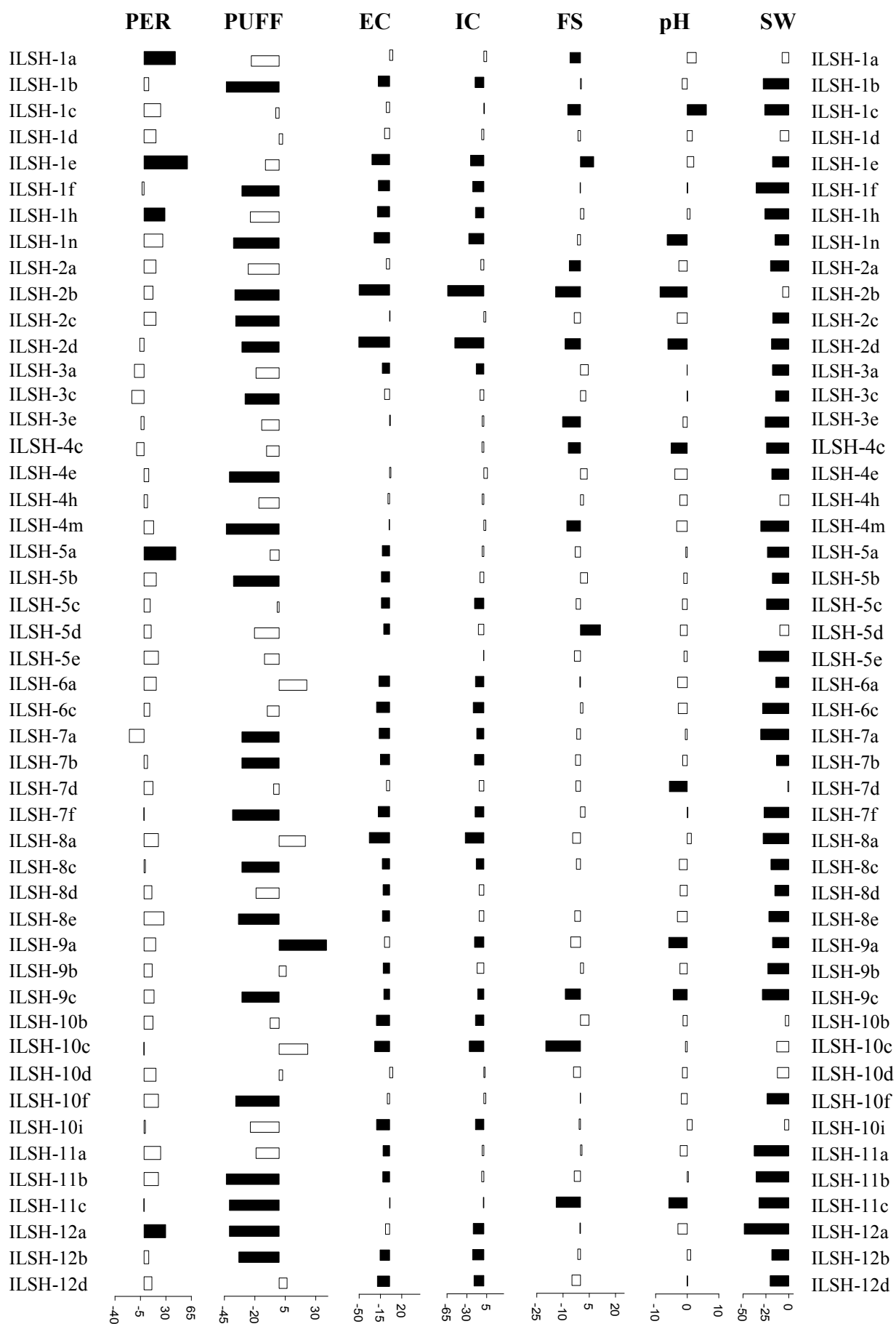


Fig. 5.

### 1.3.2.2 Prova condotta nel 2011

Le medie e le deviazioni standard relative ai 13 caratteri valutati nel 2011 sulle 66 IL e sul controllo (cv. E6203) sono indicate nelle **Tab. 6a e 7a**. Nelle **Tab. 6b e 7b**, sono riportate, invece, le medie degli stessi caratteri espresse come variazione percentuale rispetto al controllo e sono messe in evidenza le variazioni statisticamente significative secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ). Nelle **Fig. 6 e 7**, è mostrata una rappresentazione grafica dei dati riportati nelle **Tab. 6b e 7b**.

*Peso medio dei frutti (FW)*. 33 IL hanno mostrato una riduzione significativa del peso medio dei frutti rispetto al controllo. La variazione è stata registrata in un range compreso tra -17,1% della ILSH-4h del cromosoma 4 e -49,8% della ILSH-2g del cromosoma 2.

*Peso della parte epigea della pianta (PW)*. Per questo carattere, sei IL hanno evidenziato differenze positive statisticamente significative, comprese tra 82,2% della ILSH-3a (cromosoma 3) e 148,9% della linea ILSH-5d (cromosoma 5).

*Produzione totale (TY)*. Nove IL hanno mostrato una riduzione della produzione totale rispetto al controllo (3,30 kg), in un range di variabilità compresa tra il 40,3% della ILSH-1b del cromosoma 1 ed il 53% della ILSH-2f del cromosoma 2.

*Produzione commerciale (RY)*. Delle 66 IL testate, 13 hanno evidenziato una riduzione significativa del carattere. La ILSH-2g, analogamente al carattere HI, ha evidenziato la riduzione maggiore rispetto al controllo (66,5%). La linea ILSH-2b del cromosoma 2, invece, ha fatto registrare la riduzione percentuale minore (39,5).

*Contenuto in solidi solubili o brix (BRX)*. 17 IL hanno mostrato variazioni statisticamente significative rispetto al controllo (5,13 °Brix) e sono risultate tutte positive: da 15,8% della ILSH-5e del cromosoma 5 a 33,9% della ILSH-2f del cromosoma 2.

*Produzione di solidi solubili (BRY)*. 10 IL hanno evidenziato variazioni significative rispetto al controllo e sono risultate tutte negative, con valori compresi tra 38,2% della linea ILSH-1b (cromosoma 1) e 57,5% della ILSH-2g (cromosoma 2).

*Indice di raccolta (HI)*. Per questo carattere, 13 IL hanno mostrato variazioni statisticamente significative rispetto al controllo ( $HI=0,88$ ), e sono risultate tutte negative; in particolare, le linee ILSH-6b (cromosoma 6) e ILSH-10b (cromosoma 10) hanno entrambe evidenziato la riduzione minore (11,4%), mentre per le linee ILSH-2f e ILSH-2g del cromosoma 2 la riduzione dell'HI ha raggiunto la diminuzione maggiore (30,7%).

*Biomassa della parte epigea (BM).* Tre linee hanno mostrato una biomassa statisticamente inferiore al controllo (3,75 kg). Le variazioni registrate sono risultate comprese tra -37,6% della ILSH-6a del cromosoma 6 e -44,8% della ILSH-12a del cromosoma 12.

*Spessore del pericarpo (PER).* Variazioni statisticamente significative sono state registrate per 12 IL, ed in tutti i casi è stata osservata una riduzione dello spessore del pericarpo rispetto al controllo, variabile tra 23,3% della linea ILSH-6a del cromosoma 6 e 43,2% della ILSH-11c del cromosoma 11.

*Scatolatura del frutto (PUFF).* 12 IL hanno registrato variazioni significative rispetto al controllo; in particolare per nove linee il carattere è diminuito rispetto al controllo (da 30,6% della ILSH-4h a 41,0% della ILSH-6d), mentre per altre tre linee si sono avuti frutti più scatolati con incrementi del carattere compresi tra il 35,4% della ILSH-10c del cromosoma 10, ed il 48,1% della ILSH-9a del cromosoma 9.

*Colore esterno del frutto (EC).* 13 IL hanno registrato variazioni significative rispetto al controllo, nello specifico per nove IL il carattere è diminuito rispetto al controllo (dal 15,6% della ILSH-12b al 47,0% della ILSH-2d), mentre per altre tre linee si sono avuti frutti di colore rosso più intenso con un incremento dal 14,8% della ILSH-10m al 31,2% della ILSH-7d.

*Colore interno del frutto (IC).* 17 linee IL hanno registrato variazioni significative rispetto al controllo. Per nove di queste si è evidenziato un colore interno meno intenso, variabile tra -14,6% delle linee ILSH-1f e ILSH-8a e -64,6% della linea ILSH-2b. Per le altre otto linee è stata osservata una colorazione rossa più intensa, con incrementi variabili tra il 14,6% della linea ILSH-5e del cromosoma 5 ed il 23,8% della ILSH-6b del cromosoma 6.

*Forma del frutto (FS).* 18 IL hanno presentato variazioni statisticamente significative rispetto al controllo. Per 16 IL è stata osservata una variazione negativa, ossia frutti più rotondi rispetto al controllo (da -6,2% della ILSH-1g del cromosoma 1 a -14,7% della ILSH-2b del cromosoma 2). Per le altre due IL è stato registrato un aumento del rapporto L/D (7,0% per la linea ILSH-1e del cromosoma 1 e 9,0% della linea ILSH-5d del cromosoma 5).

**Tab 6a.** Medie e deviazioni standard dei caratteri relativi alla produttività, valutati sulle 66 IL di *S. habrochaites* LA1777 e sul controllo nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2011.

Genotipo	Crom.	No. di repliche	FW (g)	PW (kg)	TY (kg)	RY (kg)	BRX (°B)	BRY (g)	HI	BM (kg)
cv. E6203		42-43	74,51 (9,21)	0,45 (0,16)	3,30 (0,98)	2,96 (0,96)	5,13 (0,59)	150,89 (4,96)	0,88 (0,03)	3,75 (1,10)
ILSH-1a	1	7-8	64,22 (6,46)	0,63 (0,15)	2,76 (0,68)	2,33 (0,52)	6,40 (0,29)	148,32 (2,98)	0,81 (0,05)	3,39 (0,74)
ILSH-1b	1	10	61,53 (12,34)	0,32 (0,12)	1,97 (0,48)	1,77 (0,39)	5,23 (0,71)	93,35 (2,61)	0,86 (0,02)	2,28 (0,59)
ILSH-1c	1	7	56,67 (6,86)	0,44 (0,16)	2,30 (0,70)	1,89 (0,68)	6,34 (0,75)	119,46 (4,33)	0,84 (0,04)	2,74 (0,80)
ILSH-1d	1	7	58,62 (9,75)	0,53 (0,21)	2,59 (0,98)	2,27 (1,21)	5,96 (0,63)	132,60 (7,02)	0,81 (0,12)	3,12 (0,89)
ILSH-1e	1	7	67,98 (7,68)	0,61 (0,23)	3,37 (1,62)	2,78 (1,53)	6,70 (0,41)	182,42 (9,80)	0,83 (0,06)	3,98 (1,83)
ILSH-1f	1	8	61,11 (9,68)	0,36 (0,15)	2,55 (0,68)	2,45 (0,57)	5,08 (0,77)	125,57 (3,71)	0,88 (0,04)	2,91 (0,76)
ILSH-1g	1	9	61,54 (7,24)	0,45 (0,20)	2,85 (1,18)	2,68 (1,10)	5,64 (0,80)	148,58 (5,90)	0,86 (0,05)	3,30 (1,31)
ILSH-1h	1	6-7	49,29 (9,43)	0,77 (0,19)	2,47 (1,09)	1,83 (0,81)	6,74 (0,68)	122,51 (5,4)	0,74 (0,12)	3,24 (1,16)
ILSH-1i	1	7	66,37 (7,19)	0,49 (0,11)	2,61 (0,53)	2,38 (0,54)	6,11 (0,31)	145,53 (3,61)	0,84 (0,05)	3,10 (0,50)
ILSH-1l	1	6-7	80,10 (12,36)	0,51 (0,21)	3,57 (1,26)	3,23 (0,89)	5,88 (0,54)	191,44 (5,39)	0,88 (0,02)	4,08 (1,44)
ILSH-1n	1	4-5	62,71 (6,36)	0,66 (0,25)	2,20 (0,77)	1,74 (0,62)	5,15 (0,19)	103,58 (1,17)	0,77 (0,01)	2,86 (1,01)
ILSH-2b	2	8	47,18 (4,10)	0,59 (0,14)	1,96 (0,77)	1,79 (0,74)	5,86 (0,38)	102,71 (3,78)	0,75 (0,11)	2,55 (0,73)
ILSH-2c	2	6-7	59,59 (6,67)	0,57 (0,09)	3,50 (0,66)	3,03 (0,75)	5,45 (0,39)	163,65 (4,07)	0,86 (0,03)	4,07 (0,7)
ILSH-2d	2	6	51,36 (7,62)	0,55 (0,11)	3,27 (0,88)	2,85 (0,82)	5,48 (0,69)	156,28 (4,93)	0,85 (0,04)	3,82 (0,94)
ILSH-2f	2	7	38,40 (8,30)	0,95 (0,38)	1,55 (0,71)	1,18 (0,50)	6,87 (0,34)	81,32 (3,5)	0,61 (0,09)	2,49 (1,00)
ILSH-2g	2	5	37,41 (11,63)	1,11 (0,94)	1,60 (0,68)	0,99 (0,51)	6,36 (0,77)	64,13 (3,74)	0,61 (0,13)	2,72 (1,51)
ILSH-2h	2	7	59,86 (4,18)	0,51 (0,19)	3,47 (1,29)	3,04 (1,01)	5,36 (0,47)	159,82 (4,29)	0,87 (0,03)	3,98 (1,46)
ILSH-3a	3	7	56,46 (7,85)	0,82 (0,43)	2,53 (1,36)	1,88 (1,25)	6,23 (0,33)	115,65 (7,24)	0,74 (0,08)	3,35 (1,64)

**Tab. 6a** - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>FW</b> (g)	<b>PW</b> (kg)	<b>TY</b> (kg)	<b>RY</b> (kg)	<b>BRX</b> (°B)	<b>BRY</b> (g)	<b>HI</b>	<b>BM</b> (kg)
ILSH-3b	3	6	66,59 (9,48)	0,6 (0,16)	2,69 (0,78)	2,24 (0,72)	5,68 (0,44)	126,07 (3,78)	0,81 (0,03)	3,29 (0,90)
ILSH-3c	3	6	48,90 (8,41)	0,89 (0,33)	1,83 (0,97)	1,42 (0,80)	5,95 (0,38)	82,62 (4,48)	0,65 (0,12)	2,72 (1,17)
ILSH-3d	3	7	76,15 (4,05)	0,81 (0,37)	4,36 (1,39)	3,83 (1,18)	5,63 (0,38)	214,52 (5,95)	0,85 (0,03)	5,16 (1,73)
ILSH-3e	3	6	69,39 (5,74)	0,49 (0,05)	3,00 (0,75)	2,70 (0,60)	5,68 (0,48)	151,62 (2,59)	0,86 (0,03)	3,49 (0,77)
ILSH-3g	3	7	40,06 (18,04)	0,46 (0,17)	2,00 (0,68)	1,73 (0,61)	5,87 (0,58)	98,81 (3,07)	0,80 (0,05)	2,46 (0,79)
ILSH-3i	3	8	62,03 (11,52)	0,59 (0,21)	3,82 (0,56)	3,12 (0,92)	5,31 (0,40)	164,56 (4,41)	0,87 (0,04)	4,41 (0,66)
ILSH-4c	4	6	58,46 (8,33)	0,63 (0,19)	2,40 (0,4)	2,20 (0,41)	5,90 (0,4)	128,81 (1,75)	0,80 (0,04)	3,03 (0,55)
ILSH-4e	4	7-8	72,96 (8,68)	0,59 (0,14)	4,02 (1,09)	3,54 (0,99)	5,53 (0,56)	195,99 (5,5)	0,87 (0,03)	4,61 (1,2)
ILSH-4h	4	8	61,77 (6,76)	0,45 (0,14)	2,85 (0,79)	2,54 (0,75)	5,99 (0,27)	151,30 (4,06)	0,86 (0,04)	3,30 (0,89)
ILSH-4m	4	8	63,65 (5,41)	0,98 (1,17)	2,56 (0,92)	2,07 (0,97)	6,06 (0,40)	126,77 (6,45)	0,75 (0,20)	3,54 (1,13)
ILSH-4n	4	6	42,57 (3,12)	0,26 (0,07)	2,13 (0,48)	1,77 (0,61)	4,22 (0,62)	76,36 (3,48)	0,89 (0,01)	2,39 (0,55)
ILSH-5a	5	6	67,44 (6,35)	0,58 (0,19)	3,39 (1,24)	3,05 (1,2)	5,43 (0,57)	160,11 (4,74)	0,85 (0,03)	3,97 (1,40)
ILSH-5b	5	8	69,39 (8,41)	0,38 (0,09)	2,61 (0,56)	2,33 (0,65)	5,41 (0,59)	125,30 (3,52)	0,87 (0,01)	2,99 (0,65)
ILSH-5c	5	7	71,37 (11,72)	0,68 (0,4)	2,42 (0,75)	2,00 (0,77)	6,13 (0,68)	122,19 (4,52)	0,79 (0,05)	3,09 (1,11)
ILSH-5d	5	7	55,82 (14,98)	1,12 (0,39)	2,50 (0,96)	1,34 (0,63)	6,14 (0,57)	82,15 (3,88)	0,68 (0,11)	3,62 (1,16)
ILSH-5e	5	8	69,68 (13,43)	0,46 (0,08)	2,91 (0,90)	2,33 (1,04)	5,94 (0,5)	136,15 (5,62)	0,86 (0,03)	3,37 (0,93)
ILSH-6a	6	7	43,14 (9,67)	0,51 (0,24)	1,83 (0,84)	1,35 (0,55)	5,80 (0,48)	76,32 (3,06)	0,75 (0,19)	2,34 (0,96)
ILSH-6b	6	7	55,91 (9,88)	0,57 (0,10)	2,16 (0,98)	1,52 (1,07)	5,70 (0,38)	83,86 (5,18)	0,78 (0,06)	2,73 (1,00)
ILSH-6c	6	7	59,71 (14,05)	0,54 (0,20)	3,36 (1,20)	2,87 (0,86)	5,11 (0,46)	145,62 (4,00)	0,86 (0,03)	3,90 (1,38)
ILSH-6d	6	8	61,75 (4,71)	0,41 (0,11)	2,75 (0,53)	2,58 (0,39)	5,38 (0,51)	138,75 (2,35)	0,87 (0,03)	3,16 (0,59)

**Tab. 6a** - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>FW</b> (g)	<b>PW</b> (kg)	<b>TY</b> (kg)	<b>RY</b> (kg)	<b>BRX</b> (°B)	<b>BRY</b> (g)	<b>HI</b>	<b>BM</b> (kg)
ILSH-7a	7	8	37,77 (7,55)	0,34 (0,09)	2,44 (0,69)	2,21 (0,68)	5,81 (1,00)	124,71 (2,87)	0,87 (0,03)	2,78 (0,74)
ILSH-7b	7	7	66,37 (6,00)	0,39 (0,09)	2,78 (0,71)	2,53 (0,49)	4,87 (0,67)	121,74 (2,10)	0,87 (0,03)	3,17 (0,75)
ILSH-7d	7	6	56,04 (6,56)	0,79 (0,22)	1,74 (0,74)	1,11 (0,53)	6,50 (0,40)	71,22 (3,20)	0,67 (0,13)	2,53 (0,78)
ILSH-7e	7	8	64,74 (10,77)	0,52 (0,29)	2,46 (1,52)	2,09 (1,31)	5,50 (0,55)	112,71 (6,77)	0,80 (0,16)	2,98 (1,65)
ILSH-7f	7	6	45,42 (2,92)	0,5 (0,16)	3,21 (0,74)	2,75 (0,65)	5,40 (0,20)	149,33 (3,94)	0,87 (0,02)	3,71 (0,88)
ILSH-8a	8	8	81,49 (14,01)	0,52 (0,17)	3,20 (0,98)	2,61 (0,95)	5,20 (0,59)	137,12 (5,58)	0,86 (0,04)	3,72 (1,11)
ILSH-8c	8	7	71,26 (12,19)	0,38 (0,16)	2,64 (0,68)	2,17 (0,64)	5,16 (0,54)	109,59 (2,77)	0,87 (0,04)	3,02 (0,77)
ILSH-8d	8	7	59,93 (8,05)	0,52 (0,28)	2,78 (0,49)	2,47 (0,61)	5,41 (0,73)	131,43 (2,86)	0,84 (0,08)	3,30 (0,46)
ILSH-8e	8	7	67,09 (8,03)	0,43 (0,11)	3,13 (0,91)	2,50 (0,77)	5,23 (0,69)	131,27 (4,35)	0,88 (0,03)	3,56 (0,96)
ILSH-9a	9	6	70,74 (6,86)	0,76 (0,22)	2,57 (0,66)	2,14 (0,72)	5,97 (0,40)	126,19 (3,76)	0,77 (0,07)	3,33 (0,67)
ILSH-9b	9	8	61,03 (8,07)	0,55 (0,17)	2,55 (0,54)	2,15 (0,51)	5,41 (0,74)	117,45 (3,76)	0,82 (0,05)	3,10 (0,61)
ILSH-9c	9	7	64,22 (10,14)	0,43 (0,13)	3,12 (0,96)	2,78 (0,83)	5,01 (0,63)	138,82 (4,39)	0,88 (0,03)	3,55 (1,06)
ILSH-10b	10	7	75,29 (7,03)	0,64 (0,22)	2,69 (1,48)	2,19 (1,53)	5,96 (0,49)	132,82 (9,47)	0,78 (0,11)	3,33 (1,47)
ILSH-10c	10	8	68,64 (9,97)	0,36 (0,2)	3,13 (0,97)	2,65 (0,77)	5,13 (0,41)	135,80 (4,25)	0,90 (0,02)	3,49 (1,15)
ILSH-10d	10	8	64,34 (9,15)	0,55 (0,11)	3,21 (1,3)	2,67 (1,14)	5,21 (0,97)	133,61 (5,07)	0,84 (0,04)	3,76 (1,34)
ILSH-10f	10	7	68,50 (5,87)	0,47 (0,17)	2,94 (0,74)	2,41 (0,78)	5,23 (0,47)	126,40 (4,42)	0,86 (0,02)	3,41 (0,88)
ILSH-10g	10	7	50,69 (3,3)	0,69 (0,36)	2,46 (0,44)	1,50 (0,41)	5,63 (0,3)	84,23 (2,19)	0,79 (0,07)	3,15 (0,67)
ILSH-10h	10	7	70,18 (8,83)	0,51 (0,09)	3,14 (0,96)	2,51 (0,70)	5,44 (0,53)	136,10 (3,81)	0,86 (0,03)	3,65 (1,02)
ILSH-10i	10	6-7	68,12 (10,92)	0,46 (0,18)	2,93 (1,12)	2,64 (1,12)	5,51 (0,84)	146,33 (6,98)	0,86 (0,05)	3,38 (1,24)
ILSH-10l	10	6	78,75 (34,42)	0,46 (0,18)	1,74 (0,71)	1,28 (0,51)	5,98 (1,03)	73,31 (2,04)	0,79 (0,05)	2,20 (0,84)

**Tab. 6a** - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>FW</b> (g)	<b>PW</b> (kg)	<b>TY</b> (kg)	<b>RY</b> (kg)	<b>BRX</b> (°B)	<b>BRY</b> (g)	<b>HI</b>	<b>BM</b> (kg)
ILSH-10m	10	8	67,61 (15,09)	0,36 (0,14)	2,74 (1,00)	2,43 (0,89)	6,31 (0,31)	152,81 (5,32)	0,88 (0,04)	3,10 (1,11)
ILSH-11a	11	7-8	46,87 (5,67)	0,58 (0,12)	3,21 (1,04)	2,30 (0,64)	5,44 (0,37)	128,59 (3,61)	0,84 (0,02)	3,79 (1,14)
ILSH-11b	11	4	64,89 (8,83)	0,39 (0,11)	2,28 (0,77)	2,00 (0,74)	5,40 (1,06)	104,21 (2,79)	0,85 (0,04)	2,67 (0,83)
ILSH-11c	11	6	43,01 (13,63)	0,43 (0,18)	2,47 (0,67)	2,04 (0,84)	5,55 (0,89)	114,09 (5,04)	0,86 (0,02)	2,90 (0,84)
ILSH-12a	12	6	32,93 (5,01)	0,36 (0,09)	1,70 (0,39)	1,22 (0,38)	5,62 (0,67)	69,31 (2,46)	0,82 (0,05)	2,07 (0,39)
ILSH-12b	12	8	69,60 (10,71)	0,36 (0,12)	2,62 (0,71)	2,33 (0,65)	5,14 (0,68)	120,64 (3,78)	0,88 (0,02)	2,98 (0,81)
ILSH-12d	12	8	56,99 (4,84)	0,43 (0,11)	2,36 (0,45)	2,24 (0,50)	5,56 (0,58)	122,81 (2,33)	0,85 (0,03)	2,79 (0,53)
ILSH-12e	12	8	72,11 (11,9)	0,37 (0,17)	3,00 (1,03)	2,68 (1,04)	5,14 (0,72)	135,44 (5,52)	0,89 (0,03)	3,37 (1,15)

FW = peso medio del frutto, PW = peso della parte epigea della pianta, TY = produzione totale, RY = produzione commerciale, BRX = contenuto in solidi solubili o brix, BRY = produzione di solidi solubili, HI = indice di raccolta, BM = biomassa della parte epigea

**Tab. 6b.** Medie dei caratteri relativi alla produttività valutati sulle 66 IL di *S. habrochaites* LA1777 nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2011, espresse come variazione percentuale rispetto al controllo.

Linea	Crom.	FW %	PW %	TY %	RY %	BRIX %	BRY %	HI %	BM %
ILSH-1a	1	-13,81	40,00	-16,36	-21,28	24,76	-1,72	-7,95	-9,60
ILSH-1b	1	-17,42	-28,89	-40,30	-40,20	1,95	-38,17	-2,27	-39,20
ILSH-1c	1	-23,94	-2,22	-30,30	-36,15	23,59	-20,81	-4,55	-26,93
ILSH-1d	1	-21,33	17,78	-21,52	-23,31	16,18	-12,13	-7,95	-16,80
ILSH-1e	1	-8,76	35,56	2,12	-6,08	30,60	20,87	-5,68	6,13
ILSH-1f	1	-17,98	-20,00	-22,73	-17,23	-0,97	-16,77	0,00	-22,40
ILSH-1g	1	-17,41	0,00	-13,64	-9,46	9,94	-1,52	-2,27	-12,00
ILSH-1h	1	-33,85	71,11	-25,15	-38,18	31,38	-18,82	-15,91	-13,60
ILSH-1i	1	-10,92	8,89	-20,91	-19,59	19,10	-3,58	-4,55	-17,33
ILSH-1l	1	7,50	13,33	8,18	9,12	14,62	26,84	0,00	8,80
ILSH-1n	1	-15,84	46,67	-33,33	-41,22	0,39	-31,35	-12,50	-23,73
ILSH-2b	2	-36,68	31,11	-40,61	-39,53	14,23	-31,94	-14,77	-32,00
ILSH-2c	2	-20,02	26,67	6,06	2,36	6,24	8,42	-2,27	8,53
ILSH-2d	2	-31,07	22,22	-0,91	-3,72	6,82	3,58	-3,41	1,87
ILSH-2f	2	-48,46	111,11	-53,03	-60,14	33,92	-46,12	-30,68	-33,60
ILSH-2g	2	-49,79	146,67	-51,52	-66,55	23,98	-57,52	-30,68	-27,47
ILSH-2h	2	-19,66	13,33	5,15	2,70	4,48	5,90	-1,14	6,13
ILSH-3a	3	-24,22	82,22	-23,33	-36,49	21,44	-23,33	-15,91	-10,67
ILSH-3b	3	-10,63	33,33	-18,48	-24,32	10,72	-16,43	-7,95	-12,27
ILSH-3c	3	-34,37	97,78	-44,55	-52,03	15,98	-45,26	-26,14	-27,47
ILSH-3d	3	2,20	80,00	32,12	29,39	9,75	42,15	-3,41	37,60
ILSH-3e	3	-6,87	8,89	-9,09	-8,78	10,72	0,46	-2,27	-6,93
ILSH-3g	3	-46,24	2,22	-39,39	-41,55	14,42	-34,53	-9,09	-34,40
ILSH-3i	3	-16,75	31,11	15,76	5,41	3,51	9,08	-1,14	17,60
ILSH-4c	4	-21,54	40,00	-27,27	-25,68	15,01	-14,65	-9,09	-19,20
ILSH-4e	4	-2,08	31,11	21,82	19,59	7,80	29,89	-1,14	22,93
ILSH-4h	4	-17,10	0,00	-13,64	-14,19	16,76	0,27	-2,27	-12,00
ILSH-4m	4	-14,58	117,78	-22,42	-30,07	18,13	-15,97	-14,77	-5,60
ILSH-4n	4	-42,87	-42,22	-35,45	-40,20	-17,74	-49,37	1,14	-36,27
ILSH-5a	5	-9,49	28,89	2,73	3,04	5,85	6,10	-3,41	5,87
ILSH-5b	5	-6,87	-15,56	-20,91	-21,28	5,46	-16,96	-1,14	-20,27
ILSH-5c	5	-4,21	51,11	-26,67	-32,43	19,49	-19,02	-10,23	-17,60
ILSH-5d	5	-25,08	148,89	-24,24	-54,73	19,69	-45,59	-22,73	-3,47
ILSH-5e	5	-6,48	2,22	-11,82	-21,28	15,79	-9,81	-2,27	-10,13
ILSH-6a	6	-42,10	13,33	-44,55	-54,39	13,06	-49,44	-14,77	-37,60
ILSH-6b	6	-24,96	26,67	-34,55	-48,65	11,11	-44,40	-11,36	-27,20
ILSH-6c	6	-19,86	20,00	1,82	-3,04	-0,39	-3,51	-2,27	4,00
ILSH-6d	6	-17,13	-8,89	-16,67	-12,84	4,87	-8,02	-1,14	-15,73
ILSH-7a	7	-49,31	-24,44	-26,06	-25,34	13,26	-17,36	-1,14	-25,87
ILSH-7b	7	-10,92	-13,33	-15,76	-14,53	-5,07	-19,35	-1,14	-15,47
ILSH-7d	7	-24,79	75,56	-47,27	-62,50	26,71	-52,82	-23,86	-32,53
ILSH-7e	7	-13,11	15,56	-25,45	-29,39	7,21	-25,31	-9,09	-20,53
ILSH-7f	7	-39,04	11,11	-2,73	-7,09	5,26	-1,06	-1,14	-1,07
ILSH-8a	8	9,37	15,56	-3,03	-11,82	1,36	-9,15	-2,27	-0,80
ILSH-8c	8	-4,36	-15,56	-20,00	-26,69	0,58	-27,37	-1,14	-19,47
ILSH-8d	8	-19,57	15,56	-15,76	-16,55	5,46	-12,92	-4,55	-12,00
ILSH-8e	8	-9,96	-4,44	-5,15	-15,54	1,95	-12,99	0,00	-5,07
ILSH-9a	9	-5,06	68,89	-22,12	-27,70	16,37	-16,37	-12,50	-11,20
ILSH-9b	9	-18,09	22,22	-22,73	-27,36	5,46	-22,13	-6,82	-17,33
ILSH-9c	9	-13,81	-4,44	-5,45	-6,08	-2,34	-8,02	0,00	-5,33



Tab. 6b - continua

Linea	Crom.	FW %	PW %	TY %	RY %	BRIX %	BRY %	HI %	BM %
ILSH-10b	10	1,05	42,22	-18,48	-26,01	16,18	-11,99	-11,36	-11,20
ILSH-10c	10	-7,88	-20,00	-5,15	-10,47	0,00	-10,01	2,27	-6,93
ILSH-10d	10	-13,65	22,22	-2,73	-9,80	1,56	-11,46	-4,55	0,27
ILSH-10f	10	-8,07	4,44	-10,91	-18,58	1,95	-16,24	-2,27	-9,07
ILSH-10g	10	-31,97	53,33	-25,45	-49,32	9,75	-44,20	-10,23	-16,00
ILSH-10h	10	-5,81	13,33	-4,85	-15,20	6,04	-9,81	-2,27	-2,67
ILSH-10i	10	-8,58	2,22	-11,21	-10,81	7,41	-3,05	-2,27	-9,87
ILSH-10l	10	5,69	2,22	-47,27	-56,76	16,57	-51,42	-10,23	-41,33
ILSH-10m	10	-9,26	-20,00	-16,97	-17,91	23,00	1,26	0,00	-17,33
ILSH-11a	11	-37,10	28,89	-2,73	-22,30	6,04	-14,78	-4,55	1,07
ILSH-11b	11	-12,91	-13,33	-30,91	-32,43	5,26	-30,95	-3,41	-28,80
ILSH-11c	11	-42,28	-4,44	-25,15	-31,08	8,19	-24,39	-2,27	-22,67
ILSH-12a	12	-55,80	-20,00	-48,48	-58,78	9,55	-54,08	-6,82	-44,80
ILSH-12b	12	-6,59	-20,00	-20,61	-21,28	0,19	-20,08	0,00	-20,53
ILSH-12d	12	-23,51	-4,44	-28,48	-24,32	8,38	-18,62	-3,41	-25,60
ILSH-12e	12	-3,22	-17,78	-9,09	-9,46	0,19	-10,27	1,14	-10,13

FW = peso medio del frutto, PW = peso della parte epigea della pianta, TY = produzione totale, RY = produzione commerciale, BRX = contenuto in solidi solubili o brix, BRY = produzione di solidi solubili, HI = indice di raccolta, BM = biomassa della parte epigea. In rosso sono indicate le variazioni statisticamente significative secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 6.** Rappresentazione grafica delle medie dei caratteri relativi alla produzione valutati sulle 66 IL di *S. habrochaites* LA1777 nella prova sperimentale condotta Battipaglia nel 2011, espresse come variazione percentuale rispetto al controllo. Le barre in nero indicano una differenza statisticamente significativa secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ). FW = peso medio del frutto, PW = peso della parte epigea della pianta, TY = produzione totale, RY = produzione commerciale, BRX = contenuto in solidi solubili o brix, BRY = produzione di solidi solubili, HI = indice di raccolta, BM = biomassa della parte epigea.

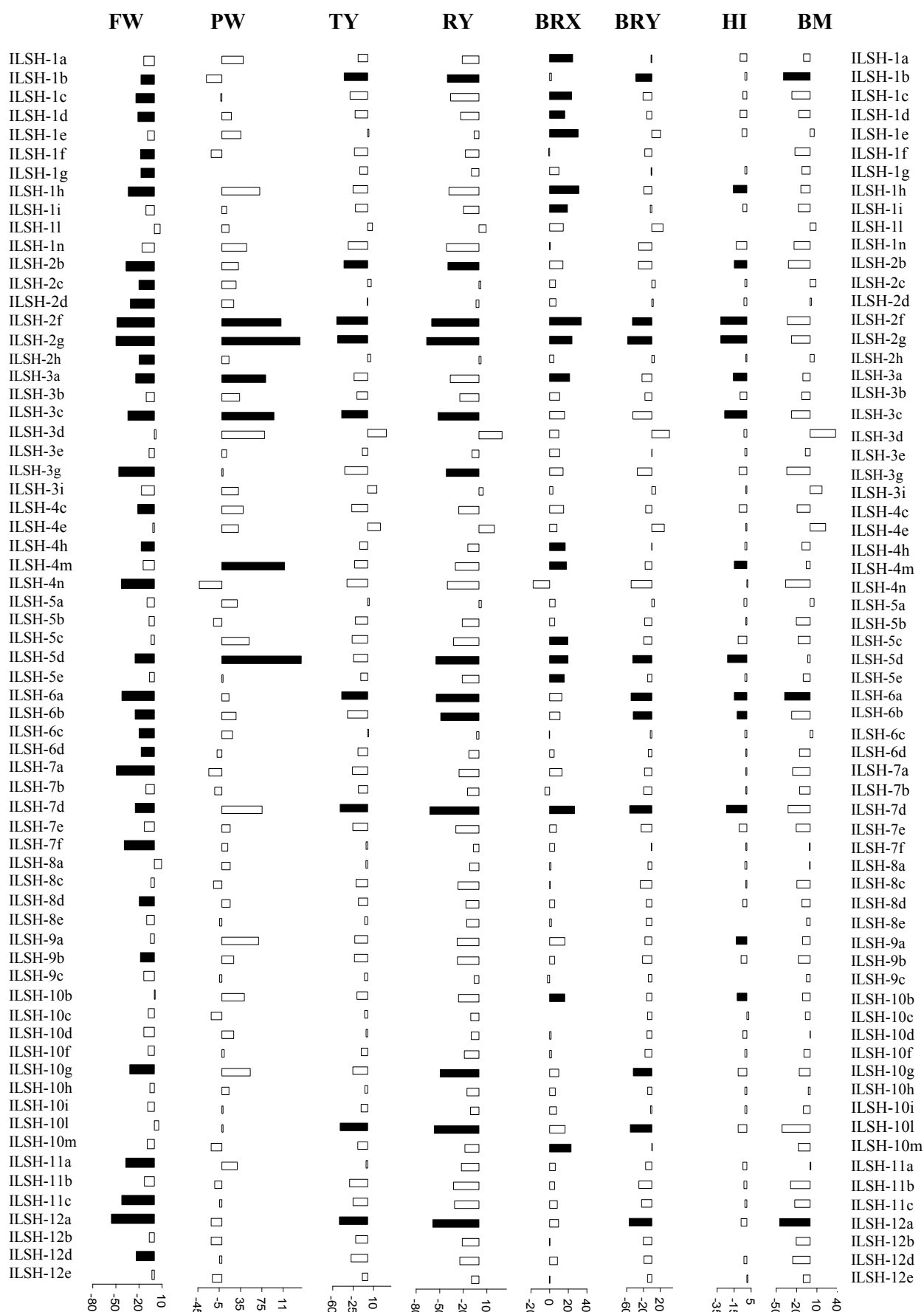


Fig. 6.

**Tab. 7a.** Medie e deviazioni standard dei caratteri fenotipici misurati alla raccolta e dei caratteri relativi alla qualità del frutto, valutati sulle 66 IL di *S. habrochaites* LA1777 e sul controllo, nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2011.

Genotipo	Crom.	No. di repliche	PER (1-3)	PUFF (1-3)	EC (1-5)	IC (1-5)	FS (L/D)
cv. E6203		42-43	2,20 (0,35)	1,80 (0,49)	2,83 (0,26)	3,00 (0,33)	1,15 (0,04)
ILSH-1a	1	7-8	2,00 (0,41)	1,79 (0,39)	3,07 (0,35)	3,36 (0,24)	1,07 (0,07)
ILSH-1b	1	10	1,95 (0,28)	1,50 (0,33)	2,95 (0,44)	2,90 (0,39)	1,10 (0,04)
ILSH-1c	1	7	1,64 (0,56)	1,29 (0,27)	2,86 (0,24)	3,36 (0,38)	1,06 (0,03)
ILSH-1d	1	7	1,43 (0,35)	1,86 (0,48)	2,71 (0,39)	2,93 (0,45)	1,13 (0,08)
ILSH-1e	1	7	1,86 (0,24)	2,64 (0,38)	2,07 (0,19)	2,07 (0,19)	1,23 (0,03)
ILSH-1f	1	8	1,94 (0,5)	1,50 (0,00)	2,56 (0,32)	2,56 (0,32)	1,17 (0,07)
ILSH-1g	1	8-9	1,50 (0,50)	1,58 (0,31)	2,83 (0,25)	3,33 (0,43)	1,08 (0,04)
ILSH-1h	1	6-7	1,58 (0,38)	1,58 (0,2)	2,92 (0,2)	3,17 (0,26)	1,10 (0,07)
ILSH-1i	1	7	1,86 (0,38)	1,79 (0,49)	2,71 (0,27)	2,79 (0,27)	1,15 (0,13)
ILSH-1l	1	6-7	2,17 (0,52)	1,75 (0,69)	2,42 (0,38)	2,92 (0,38)	1,15 (0,04)
ILSH-1n	1	4-5	2,35 (0,42)	1,60 (0,55)	2,10 (0,22)	2,20 (0,27)	1,17 (0,04)
ILSH-2b	2	8	2,13 (0,23)	1,13 (0,23)	1,53 (0,09)	1,06 (0,18)	0,98 (0,05)
ILSH-2c	2	6-7	1,93 (0,19)	1,57 (0,53)	3,07 (0,19)	3,07 (0,35)	1,12 (0,04)
ILSH-2d	2	6	1,58 (0,2)	1,25 (0,42)	1,50 (0,00)	1,50 (0,00)	1,03 (0,03)
ILSH-2f	2	7	1,64 (0,24)	1,07 (0,19)	3,29 (0,27)	3,36 (0,24)	1,10 (0,04)
ILSH-2g	2	4-5	1,80 (0,27)	1,20 (0,27)	2,88 (0,25)	3,00 (0,41)	1,10 (0,04)
ILSH-2h	2	7	1,93 (0,35)	1,07 (0,19)	2,79 (0,27)	3,14 (0,24)	1,19 (0,07)
ILSH-3a	3	7	2,00 (0,00)	1,50 (0,00)	2,86 (0,24)	3,14 (0,24)	1,19 (0,08)

**Tab. 7a** - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>PER</b> (1-3)	<b>PUFF</b> (1-3)	<b>EC</b> (1-5)	<b>IC</b> (1-5)	<b>FS</b> (L/D)
ILSH-3b	3	6	1,75 (0,27)	1,75 (0,27)	3,17 (0,26)	3,33 (0,41)	1,17 (0,03)
ILSH-3c	3	6	1,67 (0,26)	1,25 (0,42)	3,00 (0,00)	3,33 (0,26)	1,13 (0,07)
ILSH-3d	3	6	1,89 (0,45)	2,14 (0,69)	3,14 (0,24)	3,57 (0,35)	1,01 (0,02)
ILSH-3e	3	7	2,08 (0,2)	1,50 (0,45)	3,08 (0,20)	3,33 (0,26)	1,04 (0,03)
ILSH-3g	3	8	1,29 (0,27)	1,21 (0,39)	2,79 (0,49)	2,93 (0,35)	1,08 (0,04)
ILSH-3i	3	6	1,81 (0,75)	1,63 (0,35)	2,94 (0,42)	3,13 (0,35)	1,14 (0,05)
ILSH-4c	4	8	1,67 (0,03)	1,83 (0,26)	3,25 (0,42)	3,50 (0,45)	1,07 (0,03)
ILSH-4e	4	7-8	2,14 (0,38)	1,29 (0,39)	3,07 (0,19)	3,21 (0,27)	1,18 (0,05)
ILSH-4h	4	8	2,00 (0,27)	1,25 (0,38)	2,88 (0,23)	3,06 (0,18)	1,14 (0,05)
ILSH-4m	4	8	1,56 (0,32)	1,56 (0,32)	2,94 (0,18)	3,63 (0,35)	1,10 (0,04)
ILSH-4n	4	6	1,95 (0,11)	1,40 (0,42)	2,60 (0,22)	2,70 (0,27)	1,12 (0,03)
ILSH-5a	5	6	2,43 (0,35)	1,79 (0,39)	2,43 (0,19)	3,00 (0,00)	1,18 (0,04)
ILSH-5b	5	8	2,13 (0,23)	1,13 (0,23)	2,63 (0,23)	3,31 (0,26)	1,21 (0,04)
ILSH-5c	5	7	1,93 (0,35)	1,68 (0,55)	2,93 (0,19)	3,00 (0,50)	1,10 (0,06)
ILSH-5d	5	7	1,79 (0,39)	1,14 (0,24)	2,79 (0,27)	3,07 (0,35)	1,25 (0,08)
ILSH-5e	5	8	2,25 (0,38)	2,13 (0,69)	3,00 (0,27)	3,44 (0,50)	1,12 (0,05)
ILSH-6a	6	7	1,69 (0,37)	1,88 (0,23)	3,19 (0,26)	3,13 (0,52)	1,13 (0,06)
ILSH-6b	6	7	2,00 (0,00)	1,36 (0,48)	3,14 (0,48)	3,71 (0,49)	1,01 (0,11)
ILSH-6c	6	7	1,71 (0,39)	1,29 (0,27)	2,36 (0,75)	3,07 (0,35)	1,17 (0,11)
ILSH-6d	6	8	2,00 (0,6)	1,06 (0,18)	3,00 (0,00)	3,50 (0,00)	1,02 (0,04)

**Tab. 7a** - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>PER</b> (1-3)	<b>PUFF</b> (1-3)	<b>EC</b> (1-5)	<b>IC</b> (1-5)	<b>FS</b> (L/D)
ILSH-7a	7	7-8	1,36 (0,38)	1,29 (0,27)	2,71 (0,39)	3,00 (0,5)	1,17 (0,02)
ILSH-7b	7	7	2,07 (0,35)	1,43 (0,35)	2,57 (0,19)	3,07 (0,35)	1,06 (0,02)
ILSH-7d	7	6	2,07 (0,19)	1,93 (0,19)	3,71 (0,39)	3,86 (0,38)	1,12 (0,03)
ILSH-7e	7	8	2,00 (0,38)	1,13 (0,35)	3,00 (0,27)	3,25 (0,27)	1,05 (0,07)
ILSH-7f	7	6	1,83 (0,26)	1,50 (0,45)	2,42 (0,20)	2,58 (0,20)	1,13 (0,04)
ILSH-8a	8	8	2,63 (0,33)	2,25 (0,53)	2,38 (0,35)	2,56 (0,5)	1,14 (0,08)
ILSH-8c	8	7	2,00 (0,32)	1,67 (0,61)	2,71 (0,27)	3,00 (0,00)	1,13 (0,03)
ILSH-8d	8	7	2,36 (0,63)	1,71 (0,39)	2,71 (0,27)	3,00 (0,41)	1,12 (0,05)
ILSH-8e	8	7	2,14 (0,38)	1,50 (0,29)	3,00 (0,29)	3,21 (0,27)	1,11 (0,04)
ILSH-9a	9	6	2,33 (0,52)	2,67 (0,52)	3,25 (0,27)	3,00 (0,32)	1,07 (0,04)
ILSH-9b	9	8	2,00 (0,27)	2,06 (0,50)	2,88 (0,44)	2,69 (0,26)	1,12 (0,08)
ILSH-9c	9	8	2,36 (0,24)	1,57 (0,35)	2,64 (0,24)	2,93 (0,19)	1,11 (0,02)
ILSH-10b	10	7	2,29 (0,49)	1,89 (0,45)	3,00 (0,29)	3,07 (0,19)	1,16 (0,06)
ILSH-10c	10	8	1,75 (0,46)	2,44 (0,62)	2,56 (0,5)	2,69 (0,46)	1,03 (0,07)
ILSH-10d	10	8	2,31 (0,59)	1,88 (0,35)	2,75 (0,27)	2,75 (0,27)	1,17 (0,04)
ILSH-10f	10	6-7	2,17 (0,26)	1,50 (0,32)	3,00 (0,00)	3,25 (0,42)	1,13 (0,03)
ILSH-10g	10	7	1,64 (0,2)	1,93 (0,35)	3,43 (0,45)	3,86 (0,48)	1,12 (0,06)
ILSH-10h	10	7	1,71 (0,27)	1,79 (0,49)	3,14 (0,24)	3,14 (0,24)	1,09 (0,04)
ILSH-10i	10	6-7	1,79 (0,27)	1,57 (0,35)	2,50 (0,00)	2,86 (0,24)	1,15 (0,02)
ILSH-10l	10	6	1,75 (0,42)	1,25 (0,42)	2,25 (0,27)	2,33 (0,41)	1,19 (0,06)

**Tab. 7a** - continua

<b>Genotipo</b>	<b>Crom.</b>	<b>No. di repliche</b>	<b>PER</b> (1-3)	<b>PUFF</b> (1-3)	<b>EC</b> (1-5)	<b>IC</b> (1-5)	<b>FS</b> (L/D)
ILSH-10m	10	8	1,88 (0,23)	1,94 (0,50)	3,25 (0,27)	3,19 (0,26)	1,04 (0,05)
ILSH-11a	11	7-8	1,79 (0,39)	1,36 (0,38)	3,13 (0,23)	3,13 (0,44)	1,13 (0,02)
ILSH-11b	11	3-4	2,13 (0,25)	1,25 (0,29)	3,17 (0,58)	3,50 (0,50)	1,16 (0,06)
ILSH-11c	11	6	1,25 (0,42)	1,50 (0,32)	2,50 (0,45)	3,00 (0,32)	1,02 (0,08)
ILSH-12a	12	6	2,17 (0,26)	1,33 (0,41)	3,08 (0,20)	3,08 (0,38)	1,21 (0,04)
ILSH-12b	12	8	1,89 (0,33)	1,72 (0,51)	2,39 (0,33)	2,39 (0,22)	1,14 (0,05)
ILSH-12d	12	8	2,36 (0,38)	1,64 (0,38)	2,50 (0,29)	2,71 (0,27)	1,13 (0,04)
ILSH-12e	12	7-8	2,36 (0,38)	1,43 (0,19)	2,07 (0,19)	2,14 (0,24)	1,15 (0,05)

PER = spessore del pericarpo, PUFF = scatola del frutto, EC = colore esterno del frutto, IC = colore interno del frutto, FS = forma del frutto.

**Tab. 7b.** Medie dei caratteri fenotipici misurati alla raccolta e dei caratteri relativi alla qualità del frutto, sulle 66 IL di *S. habrochaites* LA1777 nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2011, espresse come variazione percentuale rispetto al controllo.

Linea	Crom.	PER %	PUFF %	EC %	IC %	FS %
ILSH-1a	1	-9,09	-0,79	8,53	11,90	-7,18
ILSH-1b	1	-11,36	-16,67	4,24	-3,33	-3,93
ILSH-1c	1	-25,32	-28,57	0,96	11,90	-7,70
ILSH-1d	1	-35,06	3,17	-4,09	-2,38	-1,76
ILSH-1e	1	-15,58	46,83	-26,80	-30,95	7,03
ILSH-1f	1	-11,93	-16,67	-9,45	-14,58	1,85
ILSH-1g	1	-31,82	-12,04	0,12	11,11	-6,22
ILSH-1h	1	-28,03	-12,04	3,06	5,56	-4,62
ILSH-1i	1	-15,58	-0,79	-4,09	-7,14	-0,05
ILSH-1l	1	-1,52	-2,78	-14,61	-2,78	-0,30
ILSH-1n	1	6,82	-11,11	-25,80	-26,67	1,68
ILSH-2b	2	-3,41	-37,50	-45,89	-64,58	-14,75
ILSH-2c	2	-12,34	-12,70	8,53	2,38	-2,59
ILSH-2d	2	-28,03	-30,56	-47,00	-50,00	-10,35
ILSH-2f	2	-25,32	-40,48	16,10	11,90	-4,61
ILSH-2g	2	-18,18	-33,33	1,59	0,00	-3,97
ILSH-2h	2	-12,34	-40,48	-1,56	4,76	3,13
ILSH-3a	3	-9,09	-16,67	0,96	4,76	3,70
ILSH-3b	3	-20,45	-2,78	11,90	11,11	1,37
ILSH-3c	3	-24,24	-30,56	6,01	11,11	-1,79
ILSH-3d	3	-13,96	19,05	11,06	19,05	-12,42
ILSH-3e	3	-5,30	-16,67	8,95	11,11	-9,19
ILSH-3g	3	-41,56	-32,54	-1,56	-2,38	-5,65
ILSH-3i	3	-17,61	-9,72	3,80	4,17	-0,94
ILSH-4c	4	-24,24	1,85	14,84	16,67	-7,16
ILSH-4e	4	-2,60	-28,57	8,53	7,14	2,67
ILSH-4h	4	-9,09	-30,56	1,59	2,08	-0,64
ILSH-4m	4	-28,98	-13,19	3,80	20,83	-4,62
ILSH-4n	4	-11,36	-22,22	-8,13	-10,00	-2,97
ILSH-5a	5	10,39	-0,79	-14,18	0,00	2,30
ILSH-5b	5	-3,41	-37,50	-7,24	10,42	5,49
ILSH-5c	5	-12,34	-6,75	3,48	0,00	-4,09
ILSH-5d	5	-18,83	-36,51	-1,56	2,38	9,05
ILSH-5e	5	2,27	18,06	6,01	14,58	-2,31
ILSH-6a	6	-23,30	4,17	12,63	4,17	-1,45
ILSH-6b	6	-9,09	-24,60	11,06	23,81	-12,06
ILSH-6c	6	-22,08	-28,57	-16,71	2,38	2,01
ILSH-6d	6	-9,09	-40,97	6,01	16,67	-11,07
ILSH-7a	7	-38,31	-28,57	-4,09	0,00	1,87
ILSH-7b	7	-5,84	-20,63	-9,14	2,38	-7,98
ILSH-7d	7	-5,84	7,14	31,25	28,57	-2,19
ILSH-7e	7	-9,09	-37,50	6,01	8,33	-8,47
ILSH-7f	7	-16,67	-16,67	-14,61	-13,89	-1,55
ILSH-8a	8	19,32	25,00	-16,08	-14,58	-1,06
ILSH-8c	8	-9,09	-7,41	-4,09	0,00	-1,85
ILSH-8d	8	7,14	-4,76	-4,09	0,00	-2,91
ILSH-8e	8	-2,60	-16,67	6,01	7,14	-3,34
ILSH-9a	9	6,06	48,15	14,84	0,00	-7,18



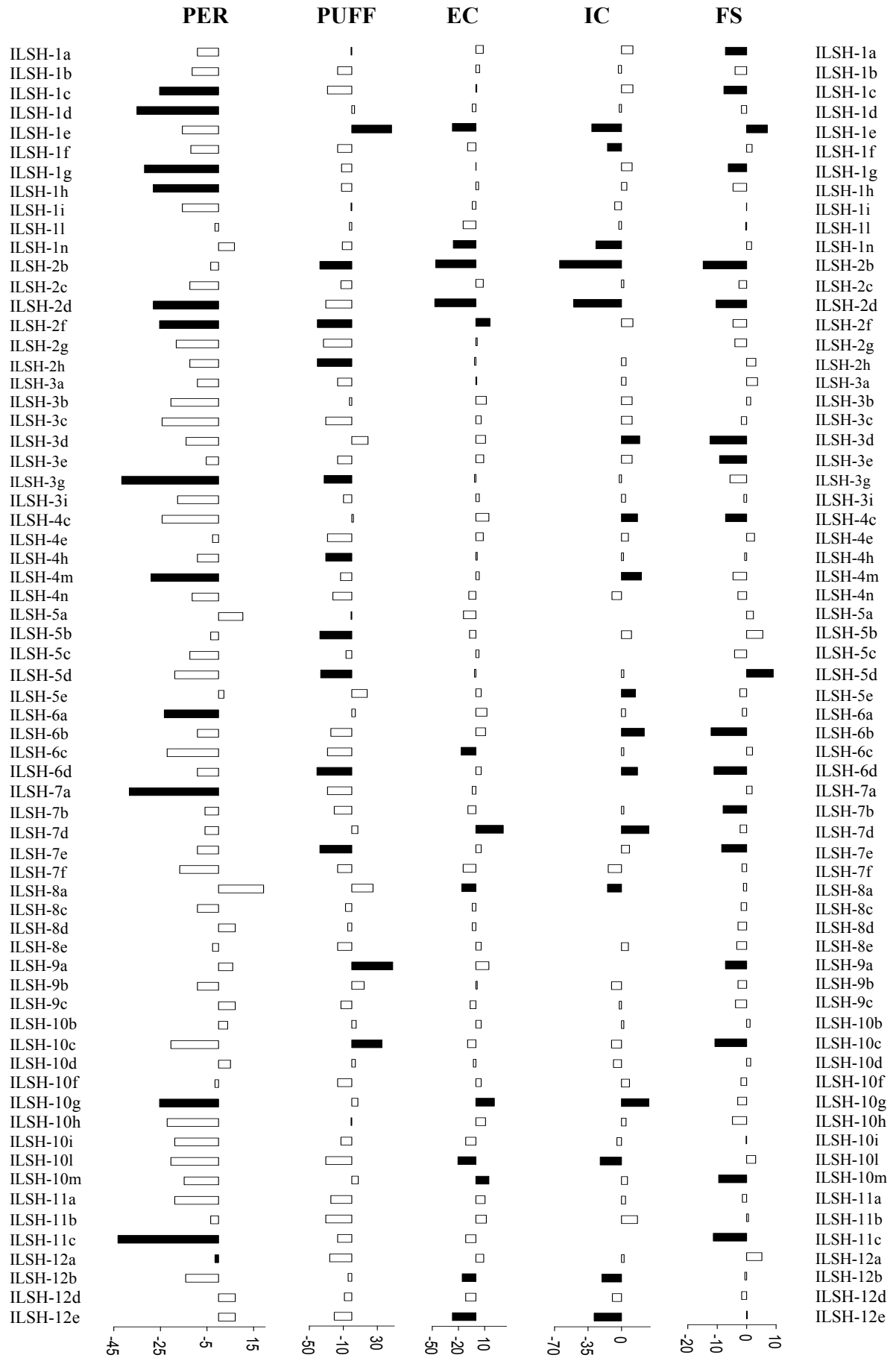
**Tab. 7b** - continua

Linea	Crom.	PER %	PUFF %	EC %	IC %	FS %
ILSH-9b	9	-9,09	14,58	1,59	-10,42	-2,92
ILSH-9c	9	7,14	-12,70	-6,61	-2,38	-3,78
ILSH-10b	10	3,90	5,16	6,01	2,38	1,16
ILSH-10c	10	-20,45	35,42	-9,45	-10,42	-10,75
ILSH-10d	10	5,11	4,17	-2,83	-8,33	1,37
ILSH-10f	10	-1,52	-16,67	6,01	8,33	-1,93
ILSH-10g	10	-25,32	7,14	21,15	28,57	-3,01
ILSH-10h	10	-22,08	-0,79	11,06	4,76	-4,81
ILSH-10i	10	-18,83	-12,70	-11,66	-4,76	-0,18
ILSH-10l	10	-20,45	-30,56	-20,49	-22,22	3,05
ILSH-10m	10	-14,77	7,64	14,84	6,25	-9,50
ILSH-11a	11	-18,83	-24,60	10,42	4,17	-1,46
ILSH-11b	11	-3,41	-30,56	11,90	16,67	0,61
ILSH-11c	11	-43,18	-16,67	-11,66	0,00	-11,30
ILSH-12a	12	-1,52	-25,93	8,95	2,78	5,18
ILSH-12b	12	-14,14	-4,32	-15,59	-20,37	-0,58
ILSH-12d	12	7,14	-8,73	-11,66	-9,52	-1,70
ILSH-12e	12	7,14	-20,63	-26,80	-28,57	0,19

PER = spessore del pericarpo, PUFF = sciolitura del frutto, EC = colore esterno del frutto, IC = colore interno del frutto, FS = forma del frutto.

In rosso sono indicate le variazioni statisticamente significative secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ).

**Fig. 7.** Rappresentazione grafica delle medie relative ai caratteri fenotipici e di qualità valutati sulle 66 IL di *S. habrochaites* LA1777 nella prova sperimentale condotta a Battipaglia nel 2011, espresse come variazione percentuale rispetto al controllo. Le barre in nero indicano una differenza statisticamente significativa secondo il test di Dunnett ( $p < 0,05$ ). PER = spessore del pericarpo, PUFF = scatola del frutto, EC = colore esterno del frutto, IC = colore interno del frutto, FS = forma del frutto.



**Fig. 7.**

### 1.3.3 Numero e posizione dei QTL identificati per ciascun carattere

Il numero minimo di QTL statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ) che influenzano un determinato carattere nelle IL è stato calcolato sulla base delle seguenti assunzioni: 1) ogni IL che influenza un carattere quantitativo contiene solo un QTL; 2) due introgressioni che si sovrappongono e che hanno un effetto significativo sul carattere (nella stessa direzione relativamente al controllo) contengono lo stesso QTL. I nomi dei QTL sono definiti dall'abbreviazione del carattere, seguiti dal numero del cromosoma e da lettere maiuscole che indicano il BIN sul quale mappano.

#### 1.3.3.1 Prova condotta nel 2010

Nell'anno 2010, per i 15 caratteri analizzati sulle 48 IL di *S. habrochaites*, nella prova condotta a Battipaglia, sono stati identificati 140 QTL statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ) (**Tab. 8**) e in **Fig. 8** sono riportate le posizioni di ciascun QTL sulla mappa molecolare del pomodoro. Ciascun QTL è stato assegnato ad un BIN, ossia una regione cromosomica definita da una composizione unica di linee di introgressione.

Di seguito viene riportata la descrizione dei QTL identificati per ciascuno dei quindici caratteri analizzati nel 2010 sulle 48 linee di introgressione.

Per il *peso medio del frutto* (FW) sono stati identificati 11 QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11 e 12. In tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del peso medio del frutto, con una variazione percentuale rispetto al controllo da un minimo di 28,0 per il QTL *fw.10E*, che mappa nel BIN E del cromosoma 10, ad un massimo del 49,1 per il QTL *fw.11B*, posizionato nel BIN B del cromosoma 11.

Per il *peso della pianta* (PW) è stato identificato un solo QTL significativo, sul cromosoma 11. L'allele selvatico ha determinato una riduzione del carattere con una variazione, rispetto al controllo, pari al 65,6%.

Per il carattere *produzione totale* (TY) sono stati identificati 13 QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11 e 12. In tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere, variabile tra il 25,7% del QTL *ty.8D* e il 79,8% del QTL *ty.3C*.

Per l'*indice di raccolta* (HI) sono stati identificati tre QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 3 e 7. L'allele di *S. habrochaites* ha determinato sempre una riduzione dell'indice, rispetto al controllo (da 12,7% per il QTL *hi.1C* al 49,3% del QTL *hi.3B*).

Per la *biomassa della parte epigea* (BM) sono stati individuati 12 QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11 e 12. In tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere, variabile tra 26,6% del QTL *bm.8D* e il 60,6% del QTL *bm.7B*.

Analizzando il carattere *produzione commerciale* (RY) sono stati individuati sei QTL significativi, che mappano sugli stessi BIN dei QTL individuati per il carattere produzione totale. In tutti i casi l'allele di *S. habrochaites* ha determinato una riduzione del carattere (dal 35,2% del QTL *ry.9B* al 79,3% del QTL *ry.3C*).

Per il *contenuto in solidi solubili o brix* (BRX) sono stati identificati tre QTL significativi: *brx.1B* e *brx.1F* (posizionati sul cromosoma 1) e *brx.7A* (posizionato sul cromosomi 7). Per *brx.1F* si è registrato un aumento del carattere rispetto al contro del 15,5%; mentre per gli altri due l'allele della specie selvatica ha determinato una diminuzione del valore.

Per il carattere *produzione di solidi solubili* (BRY) sono stati individuati otto QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 3, 7, 11 e 12. Fatta eccezione per il QTL *by.2A* per il quale si è osservato un aumento del carattere del 37,2% rispetto al controllo, l'allele della specie selvatica ha determinato riduzioni della produzione di solidi solubili tra il 34,7% del QTL *by.11B* e il 79,2% di *by.3C*.

Per lo *spessore del pericarpo* (PER) sono stati identificati tre QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 5 e 12, con un aumento del carattere compreso tra il 29,7% del QTL *per.12B* e il 59,7% del QTL *per.1F*.

Per la *scatolatura del frutto* (PUFF) sono stati identificati 14 QTL sui cromosomi 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11 e 12. Tranne che per il QTL *puff.9B*, per il quale si è verificato un aumento del carattere pari al 38,9%, in tutti gli altri casi l'allele della specie selvatica ha determinato una diminuzione della scatolatura del frutto. La riduzione percentuale variava da un minimo di 28,0 per il QTL *puff.3B* ad un massimo di 43,4 per i QTL *puff.1A*, *puff.4B* e *puff.11A*.

Per il *colore esterno del frutto* (EC) sono stati identificati 16 QTL significativi, localizzati sui cromosomi fatta eccezione per il cromosoma 4. L'allele della specie selvatica ha determinato in tutti i casi una riduzione dell'intensità del colore rosso del frutto variabile tra il 9,3% del QTL *ec.9C* e il 50,5% del QTL *ec.2C*.

Per il *colore interno del frutto* (IC) sono stati, invece, identificati 15 QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 12. L'allele di *S. habrochaites* ha determinato in

tutti i casi una riduzione dell'intensità del colore rosso all'interno del frutto, con una percentuale variabile tra il 10,8% del QTL *ic.9C* e il 63,9% del QTL *ic.2C*.

Per il *pH* (pH) sono stati identificati sette QTL significativi, sui cromosomi 1, 2, 4, 7, 9 e 11. L'allele della specie selvatica ha determinato in tutti i casi una riduzione di tale parametro, variabile tra il 4,4% per il QTL *ph.9C* e l'8,6% per il QTL *ph.2C*.

Per la *forma del frutto* (FS) sono stati individuati sei QTL, posizionati sui cromosomi 2, 3, 4, 9 e 11. In tutti i casi l'allele della specie *S. habrochaites* ha determinato riduzioni del rapporto lunghezza/larghezza in un range di variabilità compreso tra il 6,4% del QTL *fs.2B* e 14,2% dei QTL *fs.2B* e *fs.2C*.

Per il carattere *peso di 100 semi* (SW) sono stati individuati 22 QTL significativi, posizionati su tutti i cromosomi. In tutti i casi l'allele della specie *S. habrochaites* ha determinato riduzioni di tale carattere in un range di variabilità compreso tra 13,4% del QTL *sw.7A* e 48,7% del QTL *sw.12C*.

**Tab. 8.** QTL statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ) identificati per ciascuno dei 15 caratteri analizzati sulle 48 IL di *S. habrochaites* (acc. LA1777) nella prova di campo condotta a Battipaglia nel 2010. Sono riportati il carattere valutato, il numero di QTL identificati per ciascun carattere, il nome del QTL e l'intervallo della variazione percentuale osservata rispetto al controllo.

Carattere valutato	N° QTL identificati	Nome QTL	Intervallo della variazione (%)
Peso medio del frutto ( <b>FW</b> )	11	<i>fw.1B</i>	-28,5
		<i>fw.1C</i>	-27,9
		<i>fw.2C</i>	-36,1/-36,2
		<i>fw.3C</i>	-32,20/-35,1
		<i>fw.7B</i>	-42,8
		<i>fw.7D</i>	-41,4/-43,5
		<i>fw.8C</i>	-32,8
		<i>fw.9C</i>	-41,0
		<i>fw.10E</i>	-28,0
		<i>fw.11B</i>	-49,1
		<i>fw.12B</i>	-48,9
Peso della pianta ( <b>PW</b> )	1	<i>pw.11B</i>	-65,6
Produzione totale ( <b>TY</b> )	13	<i>ty.1A</i>	-28,0/-30,2
		<i>ty.1C</i>	-49,2
		<i>ty.2C</i>	-33,4/46,3
		<i>ty.3C</i>	-43,3/-79,8
		<i>ty.5E</i>	-30,8
		<i>ty.7B</i>	-73,2
		<i>ty.8D</i>	-25,7/-26,7
		<i>ty.9B</i>	-40,5
		<i>ty.9C</i>	-29,5
		<i>ty.10B</i>	-36,3/-38,6
		<i>ty.11A</i>	-52,1
		<i>ty.11B</i>	-42,3
		<i>ty.12B</i>	-45,5
Indice di raccolta ( <b>HI</b> )	3	<i>hi.1C</i>	-12,7
		<i>hi.3B</i>	-49,3
		<i>hi.7B</i>	-34,1
Biomassa della parte epigea ( <b>BM</b> )	12	<i>bm.1A</i>	-31,2/-34,2
		<i>bm.1C</i>	-43,7
		<i>bm.2C</i>	-36,1/-45,2
		<i>bm.3C</i>	-36,7/-60,3
		<i>bm.7B</i>	-60,6
		<i>bm.8D</i>	-26,6/-29,5
		<i>bm.9B</i>	-33,2
		<i>bm.9C</i>	-30,0
		<i>bm.10B</i>	-33,9/-36,9
		<i>bm.11A</i>	-49,7
		<i>bm.11B</i>	-46,7
		<i>bm.12C</i>	-28,3/-42,7
Produzione commerciale ( <b>RY</b> )	6	<i>ry.1C</i>	-49,9
		<i>ry.3C</i>	-42,7/-79,3
		<i>ry.7B</i>	-74,1
		<i>ry.9B</i>	-35,2

Tab. 8 - *continua*

Carattere valutato	N° QTL identificati	Nome QTL	Intervallo della variazione (%)
Contenuto in solidi solubili (BRX)	3	<i>ry.11A</i>	-42,2
		<i>ry.12B</i>	-40,6
		<i>brx.1B</i>	-27,6
		<i>brx.1F</i> <i>brx.7A</i>	15,4/15,5 -14,9
Produzione di solidi solubili (BRY)	8	<i>bry.1B</i>	-34,9
		<i>bry.1C</i>	-49,0
		<i>bry.2A</i>	37,2
		<i>bry.3C</i>	-37,6/-79,2
		<i>bry.7B</i>	-70,9
		<i>bry.11A</i>	-47,8
		<i>bry.11B</i>	-34,7
		<i>bry.12B</i>	-36,6
Spessore del pericarpo (PER)	3	<i>per.1F</i>	28,7/59,7
		<i>per.5B</i>	43,7
		<i>per.12B</i>	29,7
Scatolatura del frutto (PUFF)	14	<i>puff.1A</i>	-30,6/-43,4
		<i>puff.1C</i>	-37,5
		<i>puff.2D</i>	-30,6/-36,3
		<i>puff.3B</i>	-28,0
		<i>puff.4B</i>	-43,4
		<i>puff.4F</i>	-40,8
		<i>puff.7A</i>	-30,6
		<i>puff.7D</i>	-30,6/-38,3
		<i>puff.9B</i>	38,9
		<i>puff.9C</i>	-30,6
		<i>puff.10E</i>	-35,7
		<i>puff.11A</i>	-43,4
		<i>puff.11B</i>	-40,8
		<i>puff.12C</i>	-33,1/-40,8
Colore esterno del frutto (EC)	16	<i>ec.1A</i>	-18,3/-18,5
		<i>ec.1E</i>	-20,0/-28,9
		<i>ec.2C</i>	-50,0/-50,5
		<i>ec.3D</i>	-12,0
		<i>ec.5C</i>	-9,6/-12,0
		<i>ec.5D</i>	-9,6/-13,3
		<i>ec.5E</i>	-13,3
		<i>ec.6A</i>	-17,3
		<i>ec.6B</i>	-21,3
		<i>ec.7D</i>	-17,0/-18,5
		<i>ec.8A</i>	-33,3
		<i>ec.8E</i>	-10,7/-12,0
		<i>ec.9C</i>	-9,3
		<i>ec.10A</i>	-21,3
		<i>ec.11A</i>	-11,1
		<i>ec.12A</i>	-20,0



Tab. 8 - continua

Carattere valutato	N° QTL identificati	Nome QTL	Intervallo della variazione (%)
Colore interno del frutto (IC)	15	<i>ic.1A</i>	-15,4/-19,6
		<i>ic.1E</i>	-14,7/-26,5
		<i>ic.2C</i>	-51,3/-63,9
		<i>ic.3D</i>	-13,4
		<i>ic.5E</i>	-16,3
		<i>ic.6A</i>	-14,7
		<i>ic.6B</i>	-18,6
		<i>ic.7A</i>	-16,3
		<i>ic.7D</i>	-12,5/-15,4
		<i>ic.8A</i>	-32,7
		<i>ic.9B</i>	-16,3
		<i>ic.9C</i>	-10,8
		<i>ic.10B</i>	-14,7/-25,6
		<i>ic.12A</i>	-17,3
		<i>ic.12C</i>	18,6/-19,8
Forma del frutto (FS)	6	<i>fs.2B</i>	-6,4/-14,2
		<i>fs.2C</i>	-8,8/-14,2
		<i>fs.3A</i>	-10,3
		<i>fs.4C</i>	-7,0/-7,8
		<i>fs.9C</i>	-8,7
		<i>fs.11B</i>	-13,9
pH (pH)	7	<i>ph.1C</i>	-6,3
		<i>ph.2C</i>	-6,1/-8,6
		<i>ph.4D</i>	-5,1
		<i>ph.7B</i>	-5,6
		<i>ph.9B</i>	-5,8
		<i>ph.9C</i>	-4,4
		<i>ph.11B</i>	-5,8
Peso dei 100 semi (SW)	22	<i>sw.1A</i>	-27,9/-35,6
		<i>sw.1E</i>	-15,0/-26,0
		<i>sw.2A</i>	-19,9
		<i>sw.3A</i>	-25,7
		<i>sw.3C</i>	-14,3/-17,8
		<i>sw.4C</i>	-24,2/-30,5
		<i>sw.4E</i>	-18,5/-24,2
		<i>sw.5A</i>	-32,4
		<i>sw.5E</i>	-24,2
		<i>sw.6A</i>	-14,1
		<i>sw.6B</i>	-28,6
		<i>sw.7A</i>	-13,4
		<i>sw.7D</i>	-27,0/-30,6
		<i>sw.8A</i>	-28,0
		<i>sw.8E</i>	-15,2/-21,7
		<i>sw.9A</i>	-17,7/-22,8
		<i>sw.9C</i>	-28,8
		<i>sw.10E</i>	-23,7
		<i>sw.11A</i>	-35,6
		<i>sw.11C</i>	-32,4/-37,8
		<i>sw.12A</i>	-20,3
		<i>sw.12C</i>	-18,5/-48,7

**Fig. 8.** Posizione cromosomica, dimensione ed identità delle 48 IL di *S. habrochaites* (acc. LA1777) nel background genetico di *S. lycopersicum* (cv. E6203), valutate nella prova di campo condotta a Battipaglia nel 2010. Ciascuna linea è stata genotipizzata con i marcatori COSII indicati alla destra di ciascun cromosoma. Le IL sono rappresentate con barre alla destra dei cromosomi. I nomi dei QTL sono definiti dall'abbreviazione del carattere, seguiti dal numero del cromosoma, e da lettere maiuscole che indicano il BIN sul quale mappano. I BIN sono indicati in lettera maiuscola alla sinistra dei cromosomi. I QTL sottolineati indicano quelli per i quali l'allele della specie selvatica determina un aumento del carattere. Le posizioni dei marcatori in cM sono riportate alla sinistra dei cromosomi, mentre alla base dei cromosomi sono indicate le loro lunghezze in cM (basate sulla mappa genetica EXPEN 2000 [www.sgn.cornell.edu](http://www.sgn.cornell.edu)). FW = peso medio del frutto, PW = peso della pianta, TY = produzione totale, HI = indice di raccolta, BM = biomassa della parte epigea, RY = produzione commerciale, BRX = contenuto in solidi solubili o brix, BRY = produzione di solidi solubili, pH = pH, PER = spessore del pericarpo, PUFF = scatola del frutto, EC = colore esterno del frutto, IC = colore interno del frutto, FS = forma del frutto, SW = peso dei 100 semi.

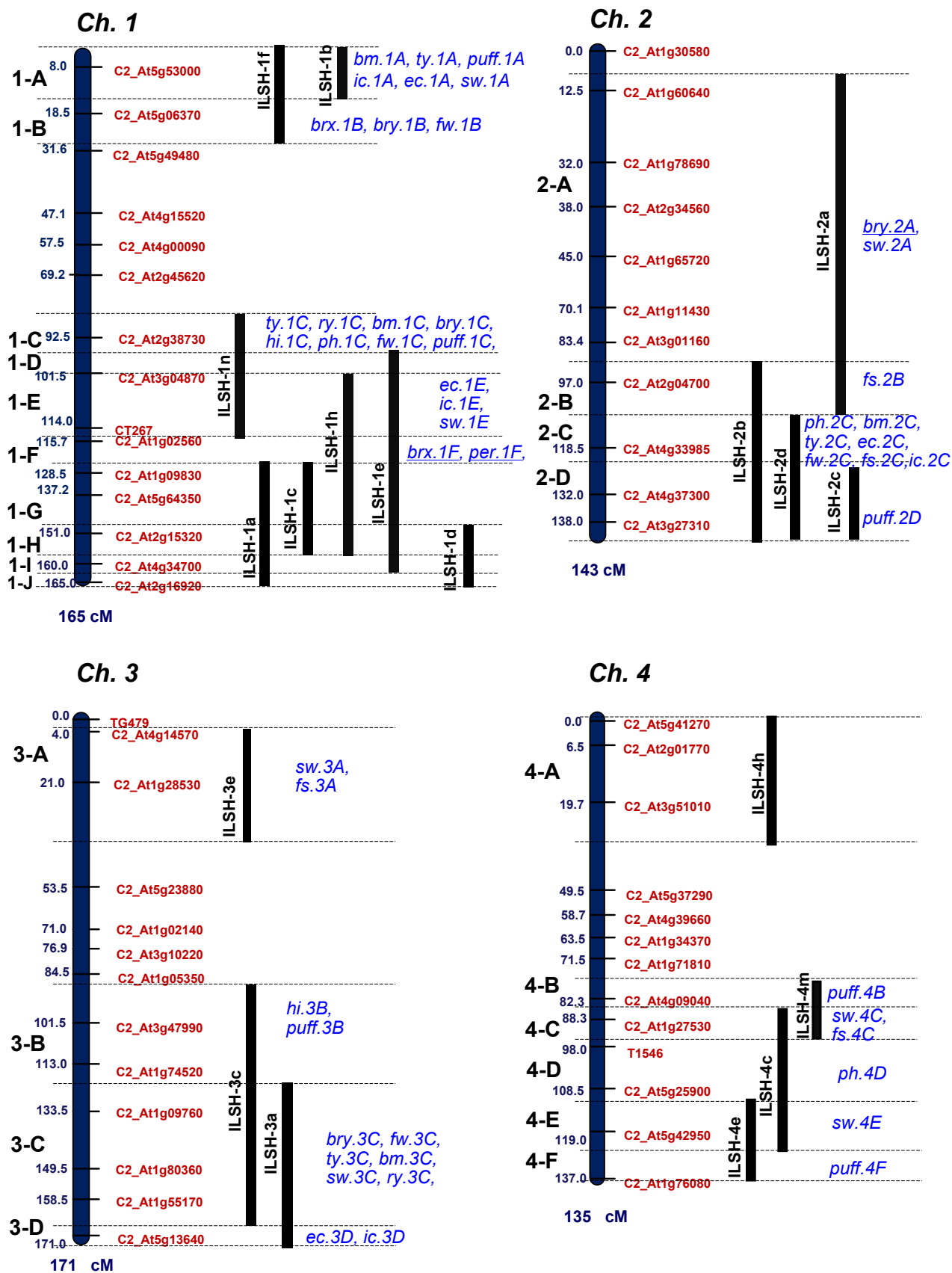


Fig. 8.

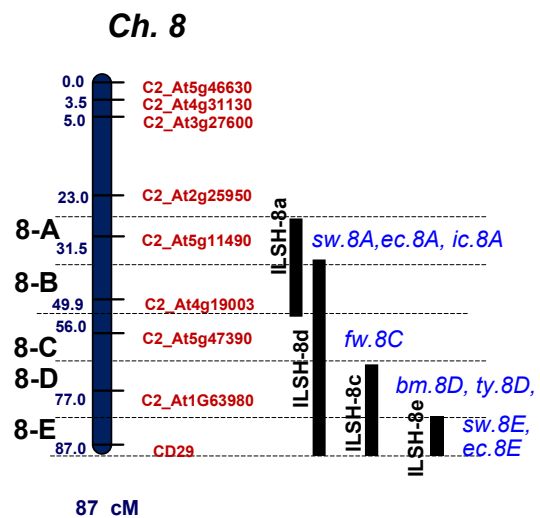
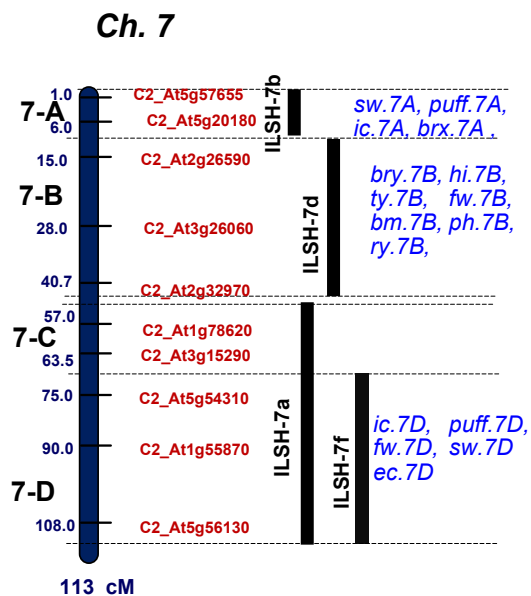
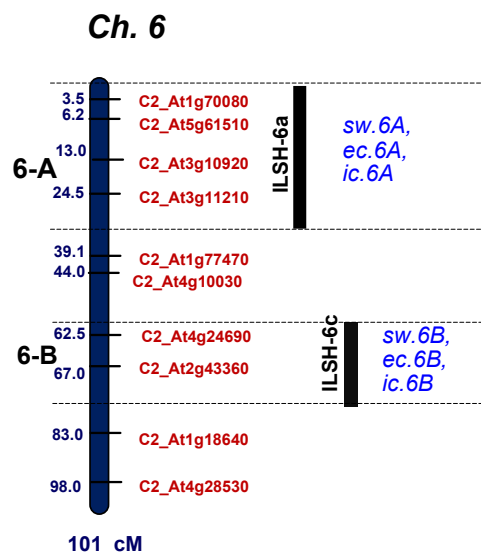
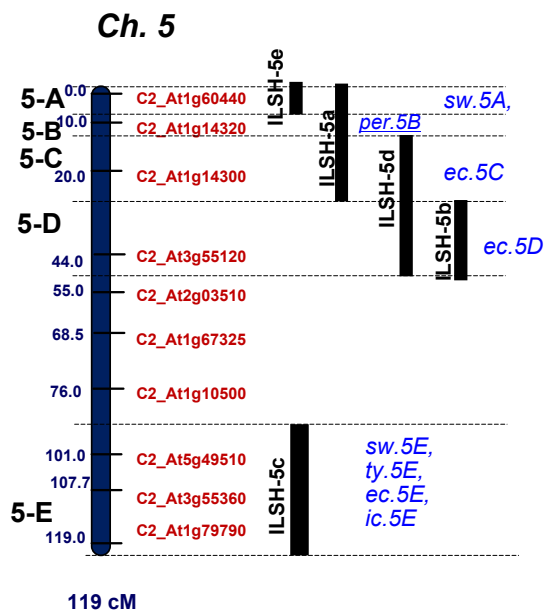


Fig. 8 - continua

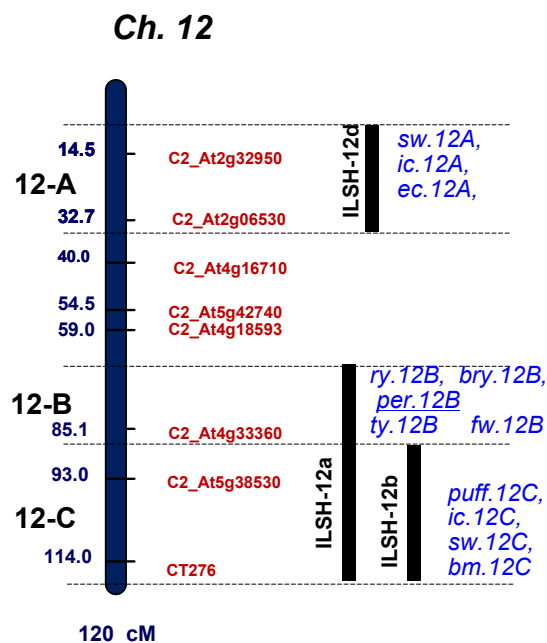
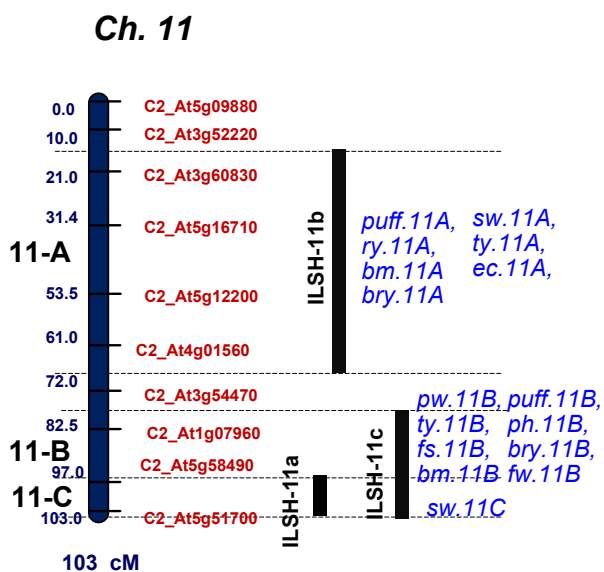
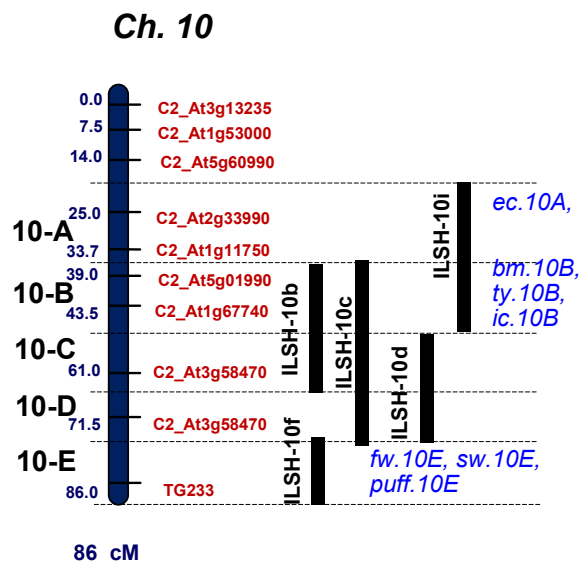
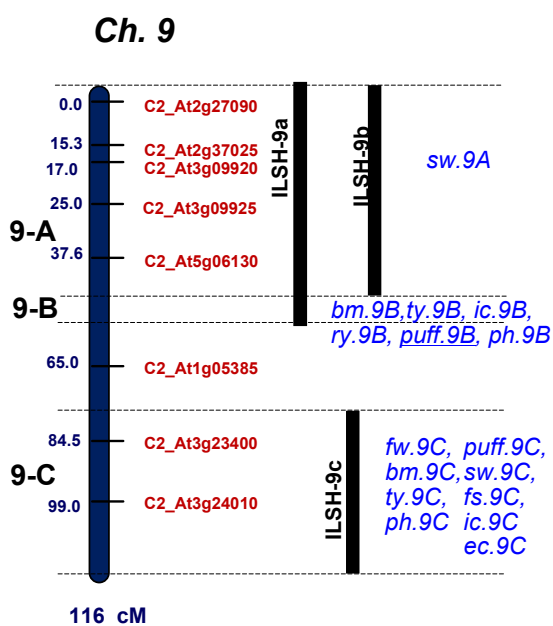


Fig. 8 - continua

### 1.3.3.2 Prova condotta nel 2011

Nell'anno 2011, per 13 caratteri analizzati sulle 66 IL di *S. habrochaites*, nella prova condotta a Battipaglia, sono stati identificati 82 QTL statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ) (**Tab. 9**) e in **Fig. 9** sono riportate le posizioni di ciascun QTL sulla mappa molecolare del pomodoro. Ciascun QTL è stato assegnato ad un BIN, ossia una regione cromosomica definita da una composizione unica di linee di introgressione.

Di seguito viene riportata la descrizione dei QTL identificati per ciascuno dei 13 caratteri analizzati nel 2011 sulle 66 linee di introgressione.

Per il *peso medio del frutto* (FW) sono stati identificati 18 QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 11, 12. In tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del peso medio del frutto, con una variazione percentuale, rispetto al controllo cv E6203, che variava da un minimo di 17,1 per i QTL *fw.4A* e *fw.6D*, ad un massimo di 55,8 per il QTL *fw.12B*.

Per il *peso della pianta* (PW) sono stati individuati tre QTL significativi, sui cromosomi 2 e 3. L'allele selvatico ha determinato sempre un aumento del carattere, con una variazione, rispetto al controllo, compresa tra l'82,2% del QTL *pw.3H* e 146,7% del QTL *pw.2A*.

Per il carattere *produzione totale* (TY) sono stati identificati quattro QTL significativi, localizzati sui cromosomi 2, 7 e 12. In tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere, variabile tra 40,6% ed il 53,0% del QTL *ty.2E*.

Per l'*indice di raccolta* (HI) sono stati identificati sei QTL significativi, localizzati sui cromosomi 2, 3, 6, 7 e 9. L'allele di *S. habrochaites* ha determinato sempre una riduzione dell'indice, rispetto al controllo E6203 (da 11,4% per il QTL *hi.6A* al 30,7% per i QTL *hi.2A* e *hi.2E*).

Per la *biomassa della parte epigea* (BM) è stato individuato un solo QTL, localizzato sul cromosoma 12, per il quale l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere pari al 44,8%.

Analizzando il carattere *produzione commerciale* (RY) sono stati individuati sei QTL significativi, quattro dei quali (*ry.2A*; *ry.2E*; *ry.7B* e *ry.12B*) mappano sugli stessi BIN dei QTL individuati per il carattere produzione totale. In tutti i casi, comunque, l'allele di *S. habrochaites* ha determinato una riduzione del carattere (dal 39,5% del QTL *ry.2E* al 66,5% del QTL *ry.2A*).

Per il *contenuto in solidi solubili o brix* (BRX) sono stati identificati otto QTL significativi, posizionati sui cromosomi 1, 2, 3, 4, 5 e 7. Per tutti i QTL identificati l'allele della specie selvatica

ha determinato un incremento percentuale del parametro in oggetto in un range compreso tra 16,8% del QTL *brx.4A* e 33,9% di QTL *brx.2C*.

Per il carattere *produzione di solidi solubili* (BRY) sono stati individuati cinque QTL significativi, localizzati sui cromosomi 2, 6, 7 e 12. L'allele della specie selvatica ha determinato sempre riduzioni della produzione di solidi solubili, che sono risultate comprese tra il 44,4% del QTL *bry.6A* e il 57,5% di *bry.2A*.

Per lo *spessore del pericarpo* (PER) sono stati identificati tre QTL significativi, localizzati sui cromosomi 2, 7 e 11 con una riduzione del carattere compresa tra il 25,3% del QTL *per.2C* e il 43,2% del QTL *per.11B*.

Per la *scatolatura del frutto* (PUFF) sono stati identificati cinque QTL sui cromosomi 2, 4, 5 e 9. Tranne che per il QTL *puff.9B*, per il quale si è verificato un aumento del carattere pari al 48,1%, in tutti gli altri casi l'allele della specie selvatica ha determinato una diminuzione percentuale del parametro in discussione, compresa nel range tra 30,6 per il QTL *puff.4A* e 40,5 per i QTL *puff.2B* e *puff.2E*.

Riguardo al *colore esterno del frutto* (EC) sono stati identificati sette QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 6, 7, 8 e 10. Per i QTL *ec.2C*, *ec.7B* e *ec.10A* l'allele della specie *S. habrochaites* ha determinato un aumento dell'intensità del colore rosso del frutto variabile tra il 14,8% del QTL *ec.10A* e il 31,2% del QTL *ec.7B*. Per gli altri quattro QTL, viceversa si sono registrate diminuzioni della colorazione rossa del frutto, comprese nel range di variabilità tra 16,1% del QTL *ec.8A* e 47,0% del QTL *ec.2G*.

Per il *colore interno del frutto* (IC) sono stati, invece, identificati nove QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 3, 4, 6, 7 e 8. Per i QTL *ic.3A*, *ic.3C*, *ic.4F*, *ic. 6C* e *ic.7B* l'allele della specie *S. habrochaites* ha determinato un aumento dell'intensità del colore rosso del frutto variabile tra il 16,7% dei due QTL posizionati sui cromosomi 4 e 6 ed il 28,6% del QTL *ic.7B*. Per gli altri quattro QTL viceversa si sono registrate diminuzioni della colorazione rossa del frutto, comprese nel range di variabilità tra 14,6% dei QTL *ic.1B* e *ic.8A* e 64,6% del QTL *ic.2G*.

Per la *forma del frutto* (FS) sono stati individuati sette QTL, posizionati sui cromosomi 2, 3, 4, 6, 7, 9 e 11. In tutti i casi l'allele della specie *S. habrochaites* ha determinato riduzioni del rapporto lunghezza/larghezza in un range di variabilità compreso tra il 7,2% dei QTL *fs.4G* e *fs.9B* e il 14,7% del QTL *fs.2G*.

**Tab. 9.** QTL statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ) identificati per ciascuno dei 13 caratteri analizzati sulle 66 IL di *S. habrochaites* (acc. LA1777) nella prova di campo condotta a Battipaglia nel 2011. Sono riportati il carattere valutato, il numero di QTL identificati per ciascun carattere, il nome del QTL e l'intervallo della variazione percentuale osservata rispetto al controllo cv. E6203.

Carattere valutato	N° QTL identificati	Nome QTL	Intervallo della variazione (%)
Peso medio dei frutti ( <b>FW</b> )	18	<i>fw.1B</i>	-18,0
		<i>fw.2A</i>	-49,8
		<i>fw.2B</i>	-19,7/-48,5
		<i>fw.2F</i>	-31,1/-48,5
		<i>fw.2H</i>	-20,0/-36,7
		<i>fw.3F</i>	-34,4/-46,2
		<i>fw.3H</i>	-24,2/-34,4
		<i>fw.4A</i>	-17,1
		<i>fw.4C</i>	-42,9
		<i>fw.4G</i>	-21,5
		<i>fw.6A</i>	-25,0/-42,1
		<i>fw.6D</i>	-17,1/-25,0
		<i>fw.7B</i>	-24,8
		<i>fw.7D</i>	-39,0/-49,3
		<i>fw.8C</i>	-19,6
		<i>fw.11C</i>	-37,1/-42,3
		<i>fw.12A</i>	-23,5
		<i>fw.12B</i>	-55,8
Peso della pianta ( <b>PW</b> )	3	<i>pw.2A</i>	146,7
		<i>pw.2C</i>	111,1
		<i>pw.3H</i>	82,2/97,8
Produzione totale ( <b>TY</b> )	4	<i>ty.2A</i>	-51,5
		<i>ty.2E</i>	-40,6/-53,0
		<i>ty.7B</i>	-47,3
		<i>ty.12B</i>	-48,5
Indice di raccolta ( <b>HI</b> )	6	<i>hi.2A</i>	-30,7
		<i>hi.2E</i>	-14,8/-30,7
		<i>hi.3H</i>	-15,9/-26,1
		<i>hi.6A</i>	-11,4/-14,8
		<i>hi.7B</i>	-23,9
		<i>hi.9B</i>	-12,5
Biomassa della parte epigea ( <b>BM</b> )	1	<i>bm.12B</i>	-44,8
Produzione commerciale ( <b>RY</b> )	6	<i>ry.2A</i>	-66,5
		<i>ry.2E</i>	-39,5/-60,1
		<i>ry.3F</i>	-41,5/-52,0
		<i>ry.6A</i>	-48,6/-54,4
		<i>ry.7B</i>	-62,5
		<i>ry.12B</i>	-58,8
Contenuto in solidi solubili ( <b>BRX</b> )	8	<i>brx.1F</i>	23,6/31,4
		<i>brx.1G</i>	19,1/31,4
		<i>brx.2A</i>	24,0
		<i>brx.2C</i>	33,9



Tab. 9 - continua

Carattere valutato	N° QTL identificati	Nome QTL	Intervallo della variazione (%)
Produzione di solidi solubili (BRY)	5	<i>brx.3I</i>	21,4
		<i>brx.4A</i>	16,8
		<i>brx.5F</i>	19,5
		<i>brx.7B</i>	26,7
		<i>bry.2A</i>	-57,5
Spessore del pericarpo (PER)	3	<i>bry.2C</i>	-46,1
		<i>bry.6A</i>	-44,4/-49,4
		<i>bry.7B</i>	-52,8
		<i>bry.12B</i>	-54,1
		<i>per.2C</i>	-25,3
Scatolatura del frutto (PUFF)	5	<i>per.7C</i>	-38,3
		<i>per.11B</i>	-43,2
		<i>puff.2B</i>	-40,5
		<i>puff.2E</i>	-37,5/-40,5
		<i>puff.4A</i>	-30,6
Colore esterno del frutto (EC)	7	<i>puff.5E</i>	-36,5/-37,5
		<i>puff.9B</i>	48,1
		<i>ec.1D</i>	-25,8/-26,8
		<i>ec.2C</i>	16,1
		<i>ec.2G</i>	-45,9/-47,0
Colore interno del frutto (IC)	9	<i>ec.6E</i>	-16,7
		<i>ec.7B</i>	31,2
		<i>ec.8A</i>	-16,1
		<i>ec.10A</i>	14,8/21,1
		<i>ic.1B</i>	-14,6
Forma del frutto (FS)	7	<i>ic.1D</i>	-26,7/-30,9
		<i>ic.2G</i>	-50,0/-64,6
		<i>ic.3C</i>	19,0
		<i>ic.3A</i>	19,0
		<i>ic.4F</i>	16,7/20,8
		<i>ic.6C</i>	16,7/23,8
		<i>ic.7B</i>	28,6
		<i>ic.8A</i>	-14,6
		<i>fs.2G</i>	-10,3/-14,7
		<i>fs.3B</i>	-9,2/-12,4
		<i>fs.4G</i>	-7,2
		<i>fs.6C</i>	-11,1/-12,1
		<i>fs.7A</i>	-8,0
		<i>fs.9B</i>	-7,2
		<i>fs.11B</i>	-11,3

**Fig. 9.** Posizione cromosomica, dimensione ed identità delle 66 IL di *S. habrochaites* (acc. LA1777) nel background genetico di *S. lycopersicum* (cv. E6203), valutate nella prova di campo condotta a Battipaglia nel 2011. Ciascuna linea è stata genotipizzata con i marcatori COSII indicati alla destra di ciascun cromosoma. Le IL sono rappresentate con barre alla destra dei cromosomi. I nomi dei QTL sono definiti dall'abbreviazione del carattere, seguiti dal numero del cromosoma, e da lettere maiuscole che indicano il BIN sul quale mappano. I BIN sono indicati in lettera maiuscola alla sinistra dei cromosomi. I QTL sottolineati indicano quelli per i quali l'allele della specie selvatica determina un aumento del carattere. Le posizioni dei marcatori in cM sono riportate alla sinistra dei cromosomi, mentre alla base dei cromosomi sono indicate le loro lunghezze in cM basate sulla mappa genetica EXPEN 2000 ([www.sgn.cornell.edu](http://www.sgn.cornell.edu)). FW = peso medio del frutto, PW = peso della pianta, TY = produzione totale, HI = indice di raccolta, BM = biomassa, RY = produzione commerciale, BRX = contenuto in solidi solubili o brix, BRY = produzione di solidi solubili, PER = spessore del pericarpo, PUFF = scatolaatura del frutto, EC = colore esterno del frutto, IC = colore interno del frutto, FS = forma del frutto.

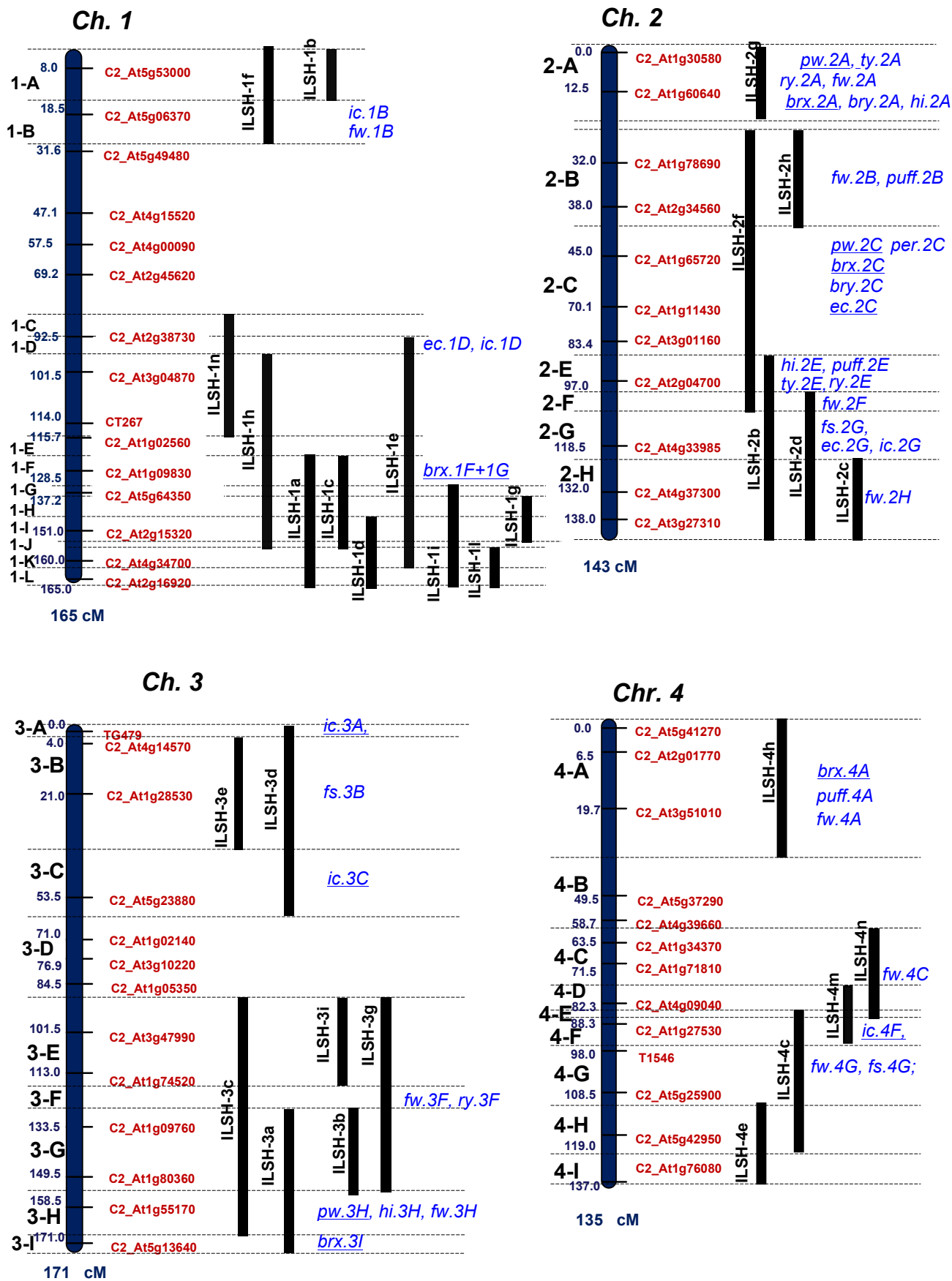


Fig. 9.

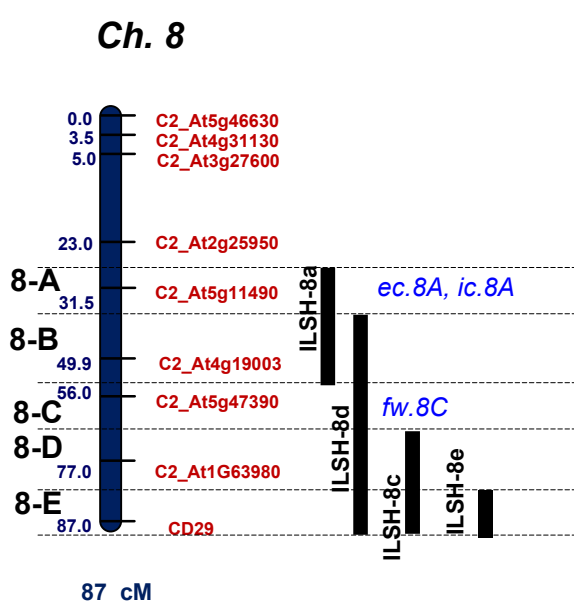
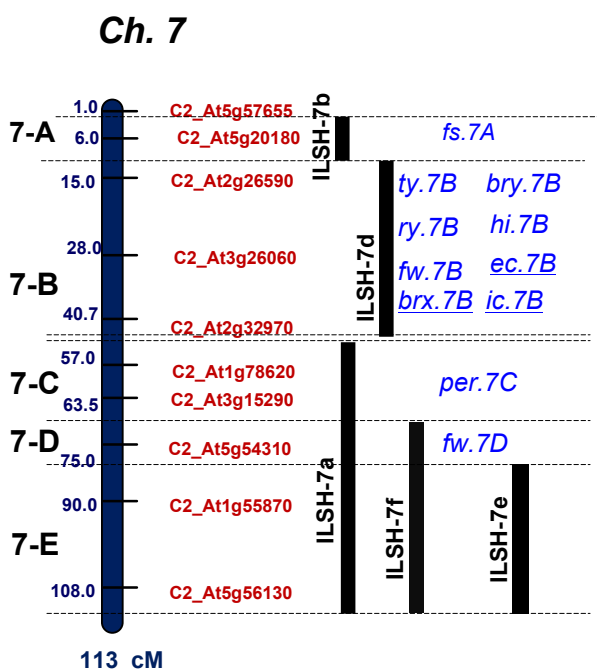
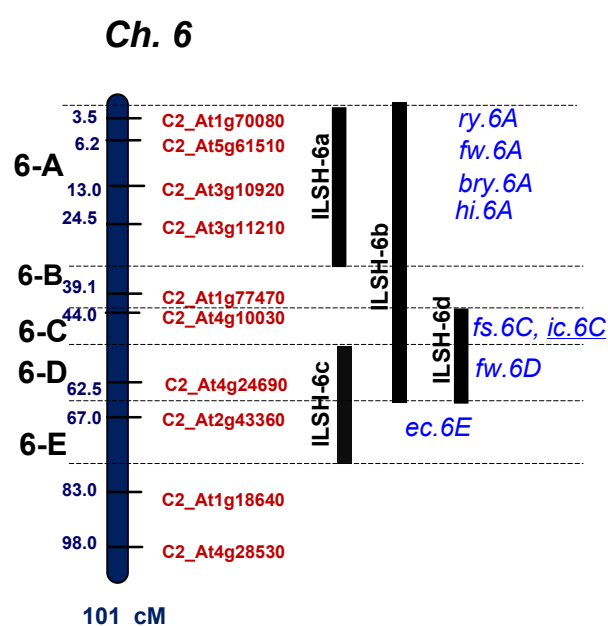
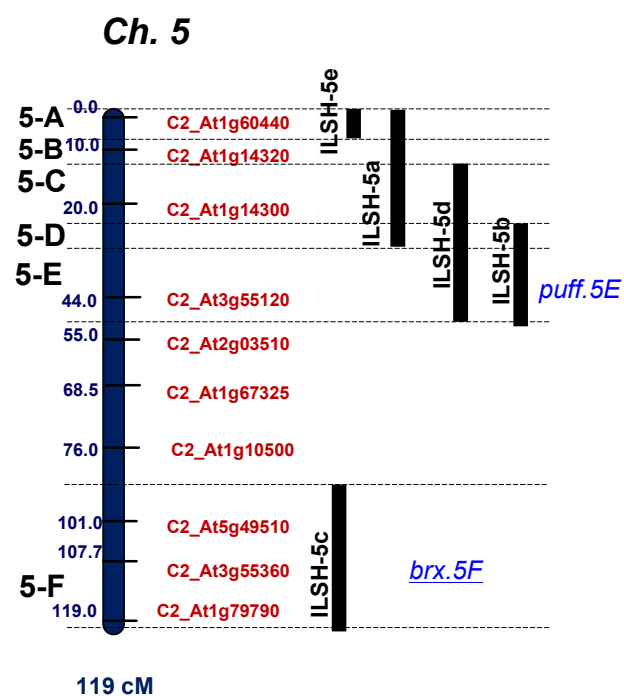


Fig. 9 - continua

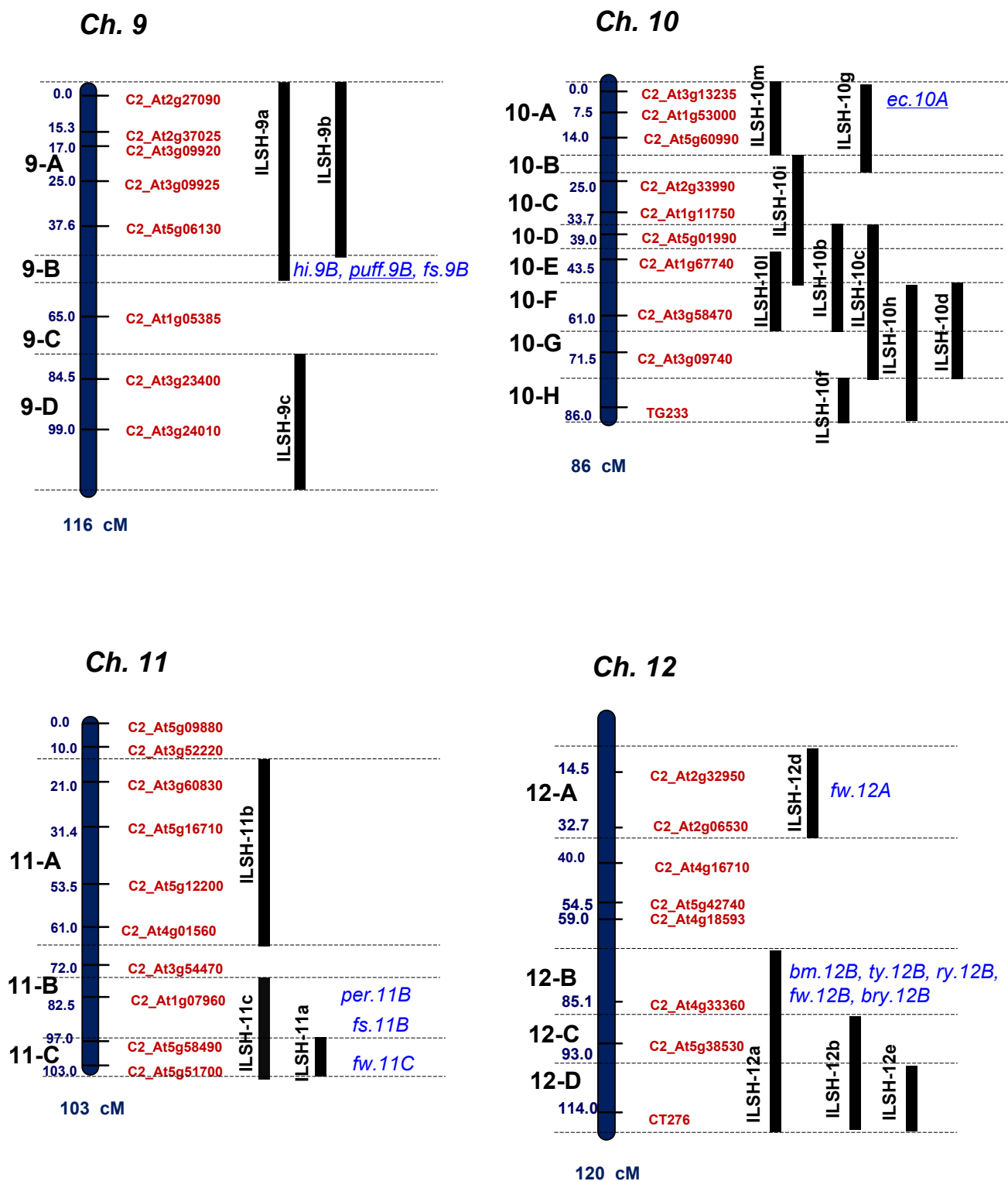


Fig. 9 - continua

## 1.4 Discussione

### 1.4.1 Numero e posizione dei QTL identificati nell'anno 2010 nelle IL di *S. habrochaites* LA1777

Diverse caratteristiche delle popolazioni di linee di introgressione (IL) contribuiscono a renderle uno strumento particolarmente efficiente per identificare QTL, infatti: a) le linee contengono singole introgressioni definite da marcatori molecolari del DNA, e pertanto tutta la variazione genetica per il carattere quantitativo è associata al segmento introgresso; b) la natura permanente delle linee permette di verificare l'effetto delle introgressioni in diversi anni ed in diversi ambienti; c) è più facile individuare i QTL di effetto minore sul fenotipo, in quanto questi non vengono mascherati da QTL di effetto maggiore presenti in altre regioni del genoma; d) nelle linee di introgressione si eliminano le interazioni epistatiche fra QTL non legati; e) l'analisi statistica è semplice in quanto si basa sul confronto delle linee con un controllo comune.

Nella prova di campo condotta a Battipaglia (SA) nel 2010, sono stati valutati 15 caratteri sulle 48 IL di *S. habrochaites*. Queste linee risultano distribuite su tutti i 12 cromosomi del pomodoro e nel loro insieme permettono una copertura di circa il 75% del genoma della specie selvatica. Confrontando i risultati ottenuti per ciascuna linea ed utilizzando la strategia del “BIN mapping”, è stato possibile identificare un totale di 140 QTL statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ). Il numero di QTL identificati per ciascun carattere varia da un minimo di un solo QTL identificato per il peso della pianta (PW) ad un massimo di 22 QTL identificati per il peso medio dei 100 semi (SW). Il numero di QTL significativi identificati per ciascun carattere deve essere considerato un numero minimo, in quanto la risoluzione delle IL analizzate, che dipende dalla dimensione delle singole linee e dal loro grado di sovrapposizione, non permette di stabilire se l'effetto osservato per ciascuna IL sui singoli caratteri è dovuto ad un singolo QTL o a più QTL legati influenzanti lo stesso carattere (Eshed e Zamir 1995, 1996). Inoltre va considerato che le IL sono state analizzate solo allo stato omozigote, tale fattore potrebbe aver limitato il numero di QTL significativi identificati in questo studio; infatti, le analisi condotte sulle IL di *S. pennellii* LA0716 sia allo stato omozigote sia allo stato eterozigote (ILH) hanno permesso, di identificare QTL che si esprimono specificamente allo stato eterozigote, e che pertanto sono di interesse per la costituzione di varietà ibride (Eshed e Zamir 1995; Gur e Zamir, 2004), nonché per lo studio delle basi genetiche dell'eterosi (Semel et al. 2006; Schauer et al. 2008).

Di seguito vengono discussi i risultati ottenuti per i principali caratteri analizzati; allo scopo sono stati confrontati i QTL individuati nel nostro studio con quelli osservati in altri studi condotti utilizzando linee di introgressione (Eshed e Zamir 1995; Prudent *et al.* 2009), popolazioni di “Advanced Backcross” (Tanksley *et al.* 1996, Fulton *et al.* 1997, 2000, 2002a, Bernacchi *et al.* 1998a, 1998b, Frary *et al.* 2004b) o altre popolazioni segreganti convenzionali (Grandillo e Tanksley 1996b; Labate *et al.* 2007; Grandillo *et al.* 2011b). Poiché per sviluppare le rispettive mappe genetiche sono stati utilizzati diversi marcatori, i QTL individuati nei diversi studi, sono stati considerati come potenzialmente ortologi, se associati ad una regione di circa 20 cM in base alla posizione dei marcatori sulla mappa EXPEN 2000 ([www.solgenomics.net](http://www.solgenomics.net)). Per il peso medio del frutto, il confronto è stato esteso ad una gamma più ampia di studi condotti, così come riportato da Grandillo e collaboratori (1999).

*Peso medio del frutto (FW).* Analizzando la popolazione di 48 IL di *S. habrochaites* è stato possibile identificare 11 QTL per il FW statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ), per i quali l’allele della specie selvatica ha determinato sempre una riduzione del carattere in esame.

Il carattere peso medio del frutto è sotto il controllo di numerosi QTL sia ad effetto maggiore sia ad effetto minore ed è stato identificato un set di almeno 28 QTL che influenzano la variazione di questo carattere confrontando i risultati di 17 studi QTL basati su popolazioni segreganti, derivate da incroci tra il pomodoro coltivato e sette differenti specie selvatiche (Grandillo *et al.* 1999; Grandillo *et al.* 2011b). Studi condotti utilizzando popolazioni derivanti dall’incrocio tra la specie coltivata (*S. lycopersicum*) e la specie selvatica a frutto rosso *S. pimpinellifolium*, hanno consentito di evidenziare l’esistenza di 18 QTL che influenzano il carattere in esame (Grandillo e Tanksley 1996a; Chen *et al.* 1999; Lippman e Tanksley 2001; Saliba-Colombani *et al.* 2001; van der Knaap e Tanksley 2003). Cinque QTL (*fw1.1*, *fw2.1*, *fw2.2*, *fw3.2* e *fw11.3*) sono stati identificati almeno in tre o più di questi studi. L’effetto di questi QTL, sul peso della bacca, differisce tra le popolazioni prese in esame, ma il *fw2.2* è risultato, in ogni caso, quello responsabile della variazione fenotipica di maggior rilievo.

La popolazione costituita dalle 50 IL di *S. pennellii* (acc. LA0716) e delle corrispondenti 50 linee allo stato eterozigote (ILH), che copre l’intero genoma della specie selvatica, ha permesso di identificare un numero minimo di 18 QTL per il FW (Eshed e Zamir 1995). Recentemente, Prudent e collaboratori (2009), in uno studio condotto su un set di 20 IL di *S. chmielewskii* (acc. LA1840), rappresentanti circa il 50% del genoma della specie selvatica, hanno evidenziato la presenza di 7 QTL per il FW.

Utilizzando popolazioni convenzionali segreganti per l'intero genoma, a parità di numero di ambienti testati, gli studi effettuati hanno permesso di identificare un numero generalmente inferiore di QTL per il FW (Grandillo e Tanksley 1996b; Grandillo *et al.* 2011b). Ad esempio, è interessante notare che la popolazione AB-QTL (BC<sub>2</sub>/BC<sub>3</sub>) derivata dall'incrocio *S. lycopersicum* (cv. E6203) x *S. habrochaites* (acc. LA1777), da cui sono state ottenute le IL oggetto di analisi (Bernacchi *et al.* 1998a), ha permesso di identificare solo tre QTL per il FW, localizzati sui cromosomi 2, 3 e 4; nessuno dei quali è stato identificato nel presente studio utilizzando le 48 IL di *S. habrochaites* (Bernacchi *et al.* 1998b).

Quasi tutti i QTL identificati, per il carattere FW, in questo studio erano stati individuati in precedenti lavori (Grandillo *et al.* 1999; Causse *et al.* 2004; Prudent *et al.* 2009; Grandillo *et al.* 2011b). Ad esempio, i QTL *fw.2C* e *fw.9C* co-localizzano con quelli identificati nelle IL di *S. pennellii* LA716 da Causse e collaboratori (2004), mentre i QTL *fw.7B* e *fw.8C* co-localizzano con quelli identificati nelle IL di *S. chmielewskii* (acc. LA1840) (Prudent *et al.* 2009). Inoltre, i QTL *fw.7B* e *fw.12B*, identificati nel nostro lavoro di tesi, sembrano corrispondere ai QTL *fw7.1* e *fw12.1* identificati in precedenza nella popolazione AB di *S. pimpinellifolium* (Tanksley *et al.* 1996), mentre il QTL *fw.10E* mappa in una regione simile al *fw10.3* identificato da Fulton e collaboratori (1997) nella popolazione AB di *S. arcanum* LA1708.

Degli 11 QTL significativi identificati nell'ambito di questa tesi, quelli che hanno mostrato un maggior effetto sul fenotipo sono stati *fw.9C*, *fw.7B*, *fw.7D*, *fw.12B* e *fw.11B*. In corrispondenza di questi QTL l'allele della specie selvatica ha determinato riduzioni del FW, rispettivamente, fino al 41,0%, 42,8%, 43,5%, 48,9% e 49,1%. L'identificazione di un numero limitato di QTL con effetto maggiore sul fenotipo, insieme ad un numero più elevato di QTL di effetto minore, è in accordo a quanto generalmente osservato in studi di analisi QTL (Kearsey e Farquar 1998; Brem e Kruglyak 2005). Il QTL *fw.2C*, identificato in questa tesi, co-localizza con il QTL *fw2.2*, il primo ad essere clonato (Frary *et al.* 2000, Nesbitt e Tanksley 2002) e che, secondo quanto riportato in diversi studi, può spiegare fino al 30% della varianza fenotipica osservata (Grandillo *et al.* 1999; 2011b).

Contrariamente a quanto riportato per le IL di *S. pennellii* LA0716 (Eshed e Zamir 1995; Causse *et al.* 2004), va osservato che, nel nostro lavoro di tesi, il set di IL di *S. habrochaites* utilizzato non ha consentito l'identificazione di alleli selvatici in grado di aumentare la dimensione del frutto.

Infine, è di particolare interesse rilevare che su 10 QTL identificati sei (*fw.1B*, *fw.3C*, *fw.7B*, *fw.7D*, *fw.9C* e *fw.12B*) risultano essere in comune con quelli identificati nel 2009, nello



stesso sito di coltivazione, utilizzando un sub-set (40 in tutto) delle IL di *S. habrochaites* utilizzate in questa tesi (Di Dato 2009).

Per la *forma del frutto* (FS), l'analisi delle 48 IL di *S. habrochaites* ha consentito di individuare sei QTL. Questo risultato è soddisfacente, se consideriamo che per il FS, il confronto dei risultati ottenuti con sei studi che hanno analizzato l'indice di forma del frutto in pomodoro ha permesso di identificare un set di 11 QTL per il FS (Grandillo *et al.* 1999). Inoltre, QTL che influenzano la forma del frutto, ed identificati in popolazioni derivate da incroci tra *S. lycopersicum* e la specie selvatica *S. pimpinellifolium*, che presenta un frutto di piccole dimensioni del tipo cherry, sono stati identificati sul cromosoma 2 (*ovate* e *lc*) (Ku *et al.* 1999; Lippman e Tanksley 2001; van der Knaap e Tanksley 2003; Barrero e Tanksley 2004; Lecomte *et al.* 2004b; Gonzalo e van der Knaap 2008), sul cromosoma 7 (*sun*) (van der Knaap e Tanksley 2001; Brewer *et al.* 2007; Gonzalo e van der Knaap 2008), sul cromosoma 8 (*fs8.1*) (Grandillo e Tanksley 1996a; Brewer *et al.* 2007; Gonzalo e van der Knaap 2008) e sul cromosoma 11 (*f* o *fas*) (Lippman e Tanksley 2001; Barrero e Tanksley 2004)

Cinque dei QTL identificati nella presente tesi sembrano essere in comune con quelli riportati in altri studi. Il QTL *fs.2C*, ad esempio, mappa nella stessa posizione del QTL *fs2.1* identificato nella popolazione AB di *S. pimpinellifolium* (Tanksley *et al.* 1996), nella quale però l'allele della specie selvatica determina un effetto opposto (allungamento del frutto) a quello riscontrato nel nostro lavoro di tesi. I QTL *fs.2B*, *fs.3A*, *fs.9C* e *fs.11B* potrebbero essere in comune con quelli identificati nella popolazione AB di *S. neorickii* (Fulton *et al.* 2000); tuttavia, per gli ultimi tre QTL menzionati, e che coinciderebbero con i QTL *fs3.1*, *fs9.1* e *fs11.1* di Fulton e collaboratori (2000), l'allele della specie selvatica nella popolazione di *S. neorickii* determina un effetto opposto (ovvero un allungamento del frutto) rispetto a quanto invece accade nella popolazione di *S. habrochaites*, oggetto di studio nella nostra tesi.

Tre QTL (*fs.2C*, *fs.3A* e *fs.9C*), individuati nella prova di campo del 2010, co-localizzano con quelli trovati da Di Dato (2009) utilizzando un sub-set di 40 IL di *S. habrochaites* LA1777 allevata nello stesso sito.

*Peso della pianta* (PW). Per questo carattere è stato identificato un solo QTL, *pw.11B*, che mappa sul cromosoma 11, e l'allele della specie selvatica determina una riduzione fino al 65,6% del peso della parte epigea della pianta rispetto al controllo. Questo carattere è stato analizzato nella popolazione di IL e ILH di *S. pennellii* LA0716 (Eshed e Zamir, 1995), ed in questo studio sono stati identificati un minimo di 16 QTL, per due dei quali l'allele della specie selvatica aveva un effetto opposto a quello atteso, determinando una riduzione del peso della pianta rispetto al

controllo (Eshed e Zamir 1995). Il QTL *pw.11B* identificato in questa tesi sembra non co-localizzare con il QTL individuato sullo stesso cromosoma nelle IL di *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995).

*Produzione totale* (TY). Per questo carattere sono stati identificati 13 QTL ed in tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione della produzione totale rispetto al controllo (cv. E6203). Questo carattere è stato valutato in molte altre popolazioni, incluso le IL di *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995, 1996) e le cinque popolazioni di AB analizzate in pomodoro (Tanksley *et al.* 1996; Fulton *et al.* 1997; Bernacchi *et al.* 1998a; Fulton *et al.* 2000; Frary *et al.* 2004b). Nella popolazione AB di *S. habrochaites* (LA1777), sono stati individuati 12 QTL significativi e per 10 di essi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere rispetto al parentale coltivato (cv. E6203) (Bernacchi *et al.* 1998a). Anche Fulton e collaboratori (2000) hanno riscontrato la presenza di 5 QTL per TY nella popolazione AB di *S. neorickii* (LA2133), e per la maggior parte di essi (4 su 5) l'allele della specie selvatica ha determinato un decremento della produzione totale. Analogamente, anche nello studio condotto sulla popolazione di 50 IL di *S. pennellii* la maggior parte dei QTL identificati per TY (9 su 11) hanno determinato una riduzione del carattere, rispetto al controllo.

Sei dei 13 QTL identificati in questa tesi per TY possono essere considerati in comune con quelli riportati per la popolazione AB di *S. habrochaites* (LA1777), dalla quale sono derivate le 48 IL analizzate (Bernacchi *et al.* 1998a; Monforte e Tanksley, 2000a). I QTL, *ty.2C*, *ty.3C*, *ty.5C*, *ty.7B*, *ty.8D* e *ty.12B*, infatti, co-localizzano con quelli riportati per le stesse regioni cromosomiche da Bernacchi e collaboratori (1998a). Tre di questi QTL, *ty.2C*, *ty.3C* e *ty.7B*, in particolare, sono probabilmente in comune anche con la popolazione AB di *S. pimpinellifolium* (Tanksley *et al.* 1996) ed i QTL *ty.9B* e *ty.10.B* con la popolazione di *S. arcanum* (Fulton *et al.* 1997).

Tre QTL, *ty.3C*, *ty.5E* e *ty.7B*, sembrano invece co-localizzare anche con quelli riportati per le IL di *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995). Due QTL *ty.11B* e *ty.11B* non risultano identificati in nessuna delle cinque popolazioni di AB analizzate in pomodoro (Tanksley *et al.* 1996; Fulton *et al.* 1997; Bernacchi *et al.* 1998a; Fulton *et al.* 2000; Frary *et al.* 2004b) e nella popolazione di IL di *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995). Infine in questo anno di prova si confermano i QTL *ty.3C*, *ty.7B* e *ty.12B* già identificati per la popolazione di 40 IL di *S. habrochaites* allevata nello stesso sito di coltivazione (Di Dato 2009).

*Produzione commerciale* (RY). Per questo carattere sono stati identificati sei QTL significativi che mappano tutti in corrispondenza degli stessi BIN nei quali mappano i QTL identificati per TY. Anche in questo caso l'allele della specie selvatica ha determinato sempre una

riduzione della produzione commerciale rispetto al controllo. Anche questo carattere è stato misurato nelle cinque popolazioni di AB analizzate in pomodoro (Tanksley *et al.* 1996; Fulton *et al.* 1997; Bernacchi *et al.* 1998a; Fulton *et al.* 2000; Frary *et al.* 2004b), ma non è stato valutato nella popolazione di IL di *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995). Il maggior numero di QTL identificati per RY è riportato nello studio condotto sulla popolazione di *S. arcanum* (Fulton *et al.* 1997), nel quale 10 dei 12 QTL totali, hanno determinato una riduzione del carattere rispetto al parentale coltivato; mentre nella popolazione AB di *S. pimpinellifolium* per i quattro QTL identificati l'allele della specie selvatica ha causato sempre un decremento del carattere RY (Tanksley *et al.* 1996).

Quattro QTL individuati (*ry.3C*, *ry.7B*, *ry.11A* e *ry.12B*) sembrano coincidere con quelli mappati nella popolazione di AB di *S. habrochaites* LA1777 (Bernacchi *et al.* 1998a) e due di questi (*ry.3C* e *ry.7B*) sono probabilmente in comune anche con la popolazione AB di *S. pimpinellifolium* (Tanksley *et al.* 1996). Il QTL *ry.1C*, viceversa non sembra coincidere con nessuno dei QTL identificati sullo stesso cromosoma per le popolazioni AB di *S. habrochaites* (Bernacchi *et al.* 1998a) e di *S. arcanum* (Fulton *et al.* 1997).

Infine si confermano quattro QTL (*ry.3C*, *ry.7B*, *ry.11A* e *ry.12B*) già identificati per la popolazione di 40 IL di *S. habrochaites* allevata nello stesso sito di coltivazione, nell'anno 2009 (Di Dato 2009).

*Contenuto in solidi solubili o Brix (BRX)*. Il contenuto in solidi solubili del frutto è un carattere molto importante sia per il prodotto destinato all'industria di trasformazione sia per quello destinato al mercato del fresco. Per questo carattere l'analisi condotta sulle 48 IL, valutate nel 2010, ha consentito di identificare tre QTL statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ), dei quali, *brx.1B* e *brx.7A* hanno determinato una riduzione del carattere rispetto al controllo (cv. E6203). Viceversa, per il QTL *brx.1F* l'allele della specie selvatica ha determinato un aumento del contenuto in solidi solubili.

Questo carattere è stato studiato in numerose popolazioni, incluso le cinque popolazioni di "Advanced backcross" (*S. habrochaites* LA1777, *S. arcanum* LA1708, *S. neorickii* LA2133, *S. pimpinellifolium* LA1589) (Fulton *et al.* 2002) e la popolazione di IL della specie *S. pennellii* LA716 (Eshed e Zamir 1995; Causse *et al.* 2004). Lo studio condotto sulle 50 IL e ILH di *S. pennellii* valutate in una singola località, ha permesso di identificare un numero minimo di 23 QTL per BRX (Eshed e Zamir 1995). Per un solo QTL, identificato sulla IL2-1, l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del contenuto in solidi solubili rispetto al controllo (cv. M82). Più recentemente, Causse *et al.* (2004) hanno valutato la popolazione di 75 IL di *S. pennellii*

LA716 per diversi caratteri, incluso il BRX, ed hanno identificato nove QTL per i quali l'allele della specie selvatica ha determinato sempre un aumento del contenuto in solidi solubili.

I risultati ottenuti in questo lavoro di tesi, sono stati comparati con quelli riportati negli studi sopracitati ed è stato osservato che il QTL *brx.1F*, identificato per il cromosoma 1, era stato precedentemente individuato sia da Fulton *et al.* 1997, nella popolazione AB di *S. arcanum*, sia da Monforte e Tanksley (2000b). Con riferimento a quest'ultimo lavoro, gli autori, analizzando un numero maggiore di sub-IL di *S. habrochaites*, avevano delimitato il QTL per il BRX nell'intervallo definito dai marcatori CT70A e TG237, a monte di TG245. Riguardo invece al QTL individuato sul cromosoma 7, questo sembra co-localizzare con quello individuato nella popolazione di *S. pimpinellifolium*, analizzata da Fulton *et al.* 2002, dove però, a differenza, l'allele della specie selvatica ha determinato un aumento del contenuto in solidi solubili. Infine, va sottolineato che il QTL *brx.1B* non sembra coincidere con nessuno di quelli individuati analizzando le 5 popolazioni di AB (Tanksley *et al.* 1996; Fulton *et al.* 1997; Bernacchi *et al.* 1998a; Fulton *et al.* 2000; Frary *et al.* 2004b) e la popolazione di IL di *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995) e, inoltre, nessuno dei tre QTL mappati nella popolazione utilizzata in questo lavoro di tesi è stato precedentemente individuato per le 40 IL di *S. habrochaites* LA1777, allevate a Battipaglia, nel 2009 (Di Dato 2009).

*Produzione di solidi solubili (BRY).* Per questo carattere sono stati identificati otto QTL, dei quali sette hanno determinato una riduzione del carattere, mentre per il QTL *bry.2A* l'allele della specie selvatica ha favorito un aumento della produzione di solidi solubili. Questo carattere è stato valutato negli studi che hanno coinvolto le cinque popolazioni di AB sviluppate in pomodoro ed anche nella popolazione di IL di *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995). Nel caso delle popolazioni di AB, il carattere è stato calcolato come prodotto della produzione commerciale per il brix come fatto in questo lavoro di tesi, mentre nello studio di Eshed e Zamir 1995, questo parametro derivava dal prodotto tra produzione totale e brix.

Lo studio nel quale è stato identificato il maggior numero di QTL per BRY è quello condotto sulla popolazione di IL e ILH di *S. pennellii*, nel quale sono stati riportati un minimo di 14 QTL significativi, e per quattro di essi, l'allele della specie selvatica ha determinato un aumento di produzione dei solidi solubili (Eshed e Zamir 1995).

Tra i QTL identificati in questo lavoro di tesi, *bry.3C* e *bry.7B* sembrano coincidere con quelli identificati da Tanksley *et al.* 1996 nella popolazione AB di *S. pimpinellifolium*, mentre il QTL *bry.12B* co-localizza con quello identificato nella popolazione di AB di *S. habrochaites* (Bernacchi *et al.* 1998a)

*pH* (pH). In questo lavoro di tesi sono stati individuati sette QTL statisticamente significativi per i quali l'allele della specie selvatica ha determinato sempre una riduzione del carattere. Questo risulta particolarmente apprezzabile dal momento che valori di pH bassi della materia prima sono richiesti per una corretta trasformazione industriale.

10 QTL influenzanti questo carattere sono stati identificati nella popolazione di AB sviluppata per *S. neorickii* (Fulton et al. 2000), sei nella popolazione di *S. arcanum* (Fulton et al. 1997), due nella popolazione di *S. pennellii* (Frary et al. 2004b) e 11 nella popolazione di 75 di *S. pennelli*, analizzata da Causse et al. (2004).

Confrontando i risultati di questo lavoro di tesi con i lavori appena menzionati, è possibile dedurre che i QTL *ph.4D*, *ph.9B* e *ph.11B* sembrano coincidere con quelli individuati nel lavoro di Causse e collaboratori (2004), pur evidenziando per l'ultimo QTL, *ph.11B*, un effetto opposto, (aumento di pH), determinato dall'allele della specie selvatica nelle IL di *S. pennellii*, rispetto a quanto individuato nel nostro lavoro di tesi. Il QTL *ph.9C* sembra invece coincidere con *ph.9.2* individuato da Fulton e collaboratori (2000) nella popolazione AB di *S. neorickii*. Inoltre, *ph.7B* sembra co-localizzare con *ph.7.1* della stessa popolazione. Tuttavia sembrerebbe che QTL ortologi tra le due specie *S. habrochaites* e *S. neorickii* producano, nelle due popolazioni, effetti opposti, ovvero una diminuzione del pH per la prima specie e un aumento per la seconda specie selvatica.

Va infine sottolineato che quest'ultimo QTL (*ph.7B*) era già stato identificato utilizzando le 40 IL di *S. habrochaites* allevate nello stesso sito di coltivazione, come descritto da Di Dato (2009).

*Spessore del pericarpo* (PER). Per questo carattere sono stati identificati tre QTL significativi ed in tutti i casi l'allele di *S. habrochaites* ha determinato un aumento dello spessore del pericarpo. Questo carattere è stato valutato anche in una popolazione BC<sub>1</sub> derivata da un incrocio interspecifico con *S. pimpinellifolium* (Grandillo e Tanksley, 1996b e nei tre studi AB-QTL condotti sulle specie selvatiche *S. arcanum* LA1708 (Fulton et al. 1997), *S. neorickii* LA2133 (Fulton et al. 2000) e *S. pennellii* LA1657 (Frary et al. 2004b). Nello studio AB-QTL condotto sulla popolazione di *S. neorickii* sono stati identificati sette QTL per lo spessore del pericarpo e per due di essi, entrambi localizzati sul cromosoma 1, l'allele della specie selvatica ha determinato un aumento del PER (Fulton et al. 2000). Nello studio AB-QTL condotto in *S. pennelli* sono stati identificati solo due QTL, e per uno di essi, quello localizzato sul cromosoma 12, l'allele della specie selvatica ha determinato un aumento del carattere analizzato (Frary et al. 2004b). Dei tre QTL individuati nel presente lavoro di tesi, nessuno sembra coincidere con quelli rinvenuti nella popolazione AB di *S. neorickii* (Fulton et al. 2000).

*Scatolatura del frutto (PUFF)*. L'analisi condotta sulle 48 IL di *S. habrochaites* ha consentito di identificare 16 QTL per la scatolatura del frutto, per 15 dei quali l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere, interessante dal punto di vista agronomico. Questo carattere è stato valutato in tutti gli studi di analisi AB-QTL condotti in pomodoro (Tanksley *et al.* 1996; Fulton *et al.* 1997; Bernacchi *et al.* 1998a; Fulton *et al.* 2000; Frary *et al.* 2004b). Il maggior numero di QTL identificati per questo carattere è quello di 13 QTL riportati da Fulton e collaboratori (2000) per la popolazione di *S. neorickii*.

I risultati riportati in questa tesi se confrontati con quest'ultimo lavoro evidenziano che quattro QTL (*puff. 9C*, *puff.10E*, *puff.11A* e *puff.12C*) sembrano coincidere con quelli identificati da Fulton *et al.* 2000, nella specie selvatica *S. neorickii*. Sempre rispetto a questo lavoro, è possibile sottolineare una co-localizzazione del QTL *puff.7A*, che, tuttavia, ha determinato effetti opposti causati dagli alleli delle due specie selvatiche, ovvero un diminuzione del carattere per *S. habrochaites* e invece un aumento per *S. neorickii*. Analogamente, il QTL *puff.9B*, identificato a Battipaglia nel 2010, in corrispondenza del quale l'allele di *S. habrochaites* determina un aumento del carattere, sembra coincidere con il QTL *puff.9.1* identificato nella popolazione AB di *S. arcanum* (Fulton *et al.* 1997), che, viceversa determina una riduzione della scatolatura dei frutti.

*Colore esterno (EC) ed interno (IC) del frutto*. Tra i caratteri più importanti per la qualità organolettica e nutrizionale del frutto di pomodoro va annoverato il colore che è condizionato sia dal tipo di pigmento e sia dalla sua concentrazione. Allo scopo di analizzare la base genetica della variazione quantitativa del colore del frutto, sono stati condotti studi di mappatura QTL utilizzando sia una popolazione intraspecifica (Saliba-Colombani *et al.* 2001; Causse *et al.* 2002) sia popolazioni interspecifiche comprendenti sette accessioni appartenenti a cinque specie selvatiche: *S. pimpinellifolium* LA1589 (Grandillo and Tanksley 1996a; Tanksley *et al.* 1996; Doganlar *et al.* 2002), *S. pimpinellifolium* LA722 (Chen *et al.* 1999), *S. habrochaites* LA1777 (Bernacchi *et al.* 1998a, 1998b; Monforte *et al.* 2001; Yates *et al.* 2004), *S. pennellii* LA716 (Monforte *et al.* 2001; Liu *et al.* 2003), *S. pennellii* LA1657 (Frary *et al.* 2004a), *S. arcanum* LA1708 (Fulton *et al.* 1997; Monforte *et al.* 2001; Yates *et al.* 2004) e *S. neorickii* LA2133 (Fulton *et al.* 2000).

Nel nostro caso, questo carattere è stato valutato utilizzando una scala visiva e considerando sia il colore esterno del frutto (EC) sia quello interno (IC). L'analisi condotta sulle 48 IL di *S. habrochaites* valutate nel 2010 ha consentito di identificare 16 QTL per EC e 15 per IC; 11 QTL di EC mappano negli stessi BIN di IC.

Confrontando i risultati ottenuti in questo lavoro di tesi per IC, con quelli ottenuti per la popolazione di 76 IL di *S. pennellii* (acc. LA716), allevata in condizioni di asciutto ed irriguo (Liu

*et al.* 2003), è possibile affermare che sei QTL, identificati nel 2010 nelle 48 IL di *S. habrochaites* sembrano coincidere tra le due popolazioni. In particolare per i QTL *ic.6B*, *ic.7A* e *ic.12A*, del nostro lavoro di tesi, l'allele della specie selvatica *S. habrochaites* determina una riduzione del colore rosso interno del frutto, similmente a quanto avviene nelle IL di *S. pennellii*; altri tre QTL *ic.2C*, *ic.9B* e *ic.10B*, invece, pur co-localizzando nelle due popolazioni a confronto, determinano una riduzione del colore nei frutti della IL di *S. habrochaites*, mentre si ha un aumento in quelli delle IL derivanti da *S. pennellii*.

I due caratteri, EC ed IC sono stati valutati anche negli altri cinque studi di analisi di AB-QTL di cui si è parlato in precedenza; tuttavia nei diversi studi i caratteri sono stati valutati diversamente, il che rende difficile un confronto diretto (Grandillo e Tanksley 1996b; Tanksley *et al.* 1996; Fulton *et al.* 1997; Bernacchi *et al.* 1998a,b; Fulton *et al.* 2000; Frary *et al.* 2004b; Grandillo e Tanksley 2005).

Confrontando i risultati ottenuti in questa tesi con le popolazioni AB di *S. pennellii* (Frary *et al.* 2004b) e di *S. neorickii* (Fulton *et al.* 2000) è possibile evidenziare che: il QTL *ec.5D* mappa in posizione simile al QTL *ec5.1* della popolazione analizzata da Frary e collaboratori (2004b) ed in entrambi i casi l'allele della specie selvatica determina una riduzione del colore esterno del frutto; mentre i QTL *ec.2C*, *ec.5E* ed *ec.11A* presentano posizioni simili ai QTL *ec2.1*, *ec5.1* ed *ec11.1* della popolazione AB di *S. neorickii*, nella quale tuttavia l'allele della specie selvatica, a differenza di quanto accade nella popolazione analizzata nella nostra tesi, determina sempre un aumento della colorazione esterna del frutto (Fulton *et al.* 2000).

Infine è interessante sottolineare che i QTL *ec.2C*, *ec.6B*, *ic. 2C* e *ec.9C* sono stati già identificati nella prova di campo condotta a Battipaglia nel 2009, utilizzando un sub-set di 40 IL di *S. habrochaites* LA1777 (Di Dato 2009).

*Peso dei 100 semi* (SW). I semi del pomodoro coltivato sono molto più grandi di quelli dei suoi parentali selvatici (Doganlar *et al.* 2000). Questo aumento della dimensione dei semi è il risultato della selezione esercitata, durante l'addomesticamento e il breeding, per caratteri quali la resa, la germinazione uniforme e il vigore della pianta. Studi di mappatura QTL sono stati condotti utilizzando sette diverse popolazioni interspecifiche di cinque specie selvatiche (Tanksley *et al.* 1982; Weller *et al.* 1988; Goldman *et al.* 1995; Grandillo e Tanksley 1996a, Doganlar *et al.* 2000). I risultati di questi studi hanno dimostrato l'esistenza di 24 QTL distribuiti su tutti i 12 cromosomi (Doganlar *et al.* 2000).

L'analisi condotta sulle 48 IL di *S. habrochaites* ha consentito di identificare 22 QTL per questo carattere, per i quali l'allele della specie selvatica ha determinato sempre una riduzione del carattere.

Confrontando i risultati del nostro lavoro di tesi con quelli riportati da Doganlar e collaboratori (2000) è possibile evidenziare che otto QTL identificati nelle 48 IL di *S. habrochaites* sono stati identificati anche in precedenti studi. Più specificamente, i QTL *sw.1A*, *sw.5A* e *sw.7D* co-localizzano con i QTL *sw1.2*, *sw5.1* e *sw7.2*, identificati in una popolazione di "Inbred backcross lines" derivante dall'incrocio tra la varietà coltivata E6203 e la specie selvatica *S. pimpinellifolium* (LA1589) (Doganlar *et al.* 2002); i QTL *sw.4C*, *sw.6B* *sw.9A* e *sw.12C* mappano in posizioni simili a quelli identificati da Goldman e collaboratori (1995), in una popolazione RIL (specie coltivata x *S. cheesmaniae*); infine, il QTL *sw.8A* sembra essere ortologo al QTL *sw8.1* identificato nella popolazione interspecifica *S. lycopersicum* x *S. pimpinellifolium* (Weller *et al.* 1988).

Doganlar e collaboratori (2000) hanno evidenziato che il QTL *sw4.1*, non individuato comunque nel presente lavoro di tesi, è un QTL ad effetto maggiore che controlla la dimensione del seme ed è, tra i QTL influenzanti questo carattere, il più conservato in pomodoro. Questo suggerisce che questo QTL è un gene ortologo trovato in tutte le specie selvatiche di pomodoro e potenzialmente coinvolto nell'evoluzione e nella domesticazione del pomodoro coltivato.



#### **1.4.2 Numero e posizione dei QTL identificati nelle IL di *S. habrochaites* LA1777 nell'anno 2011**

Nella prova di campo condotta nel 2011, stati valutati 13 caratteri in 66 IL di *S. habrochaites* LA1777. Queste linee risultano distribuite su tutti i 12 cromosomi del pomodoro e nel loro insieme permettono una copertura di circa l'80% del genoma della specie selvatica. Le 66 IL definiscono un totale di 77 BIN, con un minimo di 3 BIN per il cromosoma 11 ed un massimo di 12 BIN per il cromosoma 1.

Confrontando i risultati ottenuti per ciascuna linea ed utilizzando la strategia del "BIN mapping", è stato possibile identificare un totale di 82 QTL statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ), distribuiti su 38 dei 77 BIN. Il numero di QTL identificati per ciascun carattere varia da un minimo di un solo QTL identificato per la biomassa della parte epigea (BM) ad un massimo di 18 QTL identificati per il peso medio del frutto (FW).

Di seguito vengono discussi i risultati ottenuti per i principali caratteri analizzati.

*Peso medio del frutto* (FW). Analizzando la popolazione di 66 IL di *S. habrochaites* è stato possibile identificare 18 QTL per FW statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ), per i quali l'allele della specie selvatica ha determinato sempre una riduzione del carattere in esame. Nella prova condotta nel 2010 con 48 IL erano stati identificati 11 QTL significativi per FW.

Sei QTL, *fw.1B*, *fw.3H*, *fw.7B*, *fw.7D*, *fw.8C* e *fw.12B*, sono stati identificati in entrambi gli anni 2010 e 2011, mentre otto QTL identificati nel 2011 *fw.1B*, *fw.2H*, *fw.3F*, *fw.4G*, *fw.6D*, *fw.7B*, *fw.7D*, *fw.12B* sono stati identificati anche nella prova condotta nel 2009 (Di Dato 2009). Va sottolineato che alcuni dei QTL identificati in più di un anno presentano denominazioni diverse, in virtù del fatto che, utilizzando un diverso numero di IL nel triennio 2009-2011, il numero e la distribuzione dei BIN risultano variati.

Infine, nove QTL sono stati identificati solo nel 2011: *fw.2A*, *fw.2B*, *fw.2F*, *fw.3F*, *fw.4A*, *fw.4C*, *fw.6A*, *fw.11C* e *fw.12A*. Tutti questi QTL, fatta eccezione per *fw.3H*, sono stati identificati in precedenti studi (Grandillo *et al.* 1999).

Dei 18 QTL significativi identificati nell'ambito di questa tesi, 10 hanno mostrato un maggior effetto sul fenotipo, in corrispondenza dei quali l'allele della specie selvatica ha determinato importanti riduzioni del FW (da 34,4% per il *fw.3H* al 55,8% per il *fw.12B*).

Analogamente a quanto osservato nelle prove condotte nel 2010 e nel 2009, anche nel 2011 non è stato individuato alcun QTL in grado di aumentare la dimensione del frutto.

Per la *forma del frutto (FS)*, l'analisi delle 66 IL di *S. habrochaites* ha consentito di individuare sette QTL.

Cinque dei QTL identificati nella presente tesi sono putativamente conservati in altre specie analizzate in diversi studi. Più precisamente, i QTL *fs.7A* e *fs.9B* sono potenzialmente ortologi ai QTL *fs.7.1* e *fs.9.1* identificati nella popolazione di AB di *S. arcanum* (Fulton *et al.* 1997), il QTL *fs.3A* è putativamente conservato anche nella popolazione di AB di *S. neorickii* (Fulton *et al.* 2000), ed infine anche *fs.2C* sembra potenzialmente ortologo al QTL *fs.2.1* della popolazione di AB di *S. pimpinellifolium* (Tanksley *et al.* 1996). Tuttavia, con riferimento a quest'ultima popolazione l'allele ortologo della specie selvatica *S. pimpinellifolium* determina un effetto opposto (allungamento del frutto) rispetto a quanto riscontrato nel nostro lavoro. Due QTL (*fs.2G* e *fs.3B*), individuati in quest'anno di prova, coincidono di fatto sia con quelli identificati nel 2010 da Di Dato (2009), utilizzando un sub-set di 40 IL di *S. habrochaites* LA1777.

*Peso della pianta (PW)*. Per questo carattere sono stati identificati tre QTL, per i quali l'allele della specie selvatica ha determinato un aumento considerevole (fino a 111,1% per il QTL *pw.2C*) del peso della parte epigea della pianta, rispetto al controllo.

Questo carattere è stato analizzato sulla popolazione di IL e ILH di *S. pennellii* LA0716 e sono stati identificati un minimo di 16 QTL, per 14 dei quali l'allele della specie selvatica ha determinato aumento del peso della pianta rispetto al controllo (Eshed e Zamir 1995). Confrontando i risultati ottenuti in questa tesi con quest'ultimo lavoro di ricerca è possibile dedurre che: il QTL *pw.2A* sembra putativamente ortologo con quello identificato nella IL2-1, tuttavia, in questa linea l'allele della specie selvatica, determina un effetto opposto (riduzione del carattere) rispetto a quanto avviene nella popolazione di *S. habrochaites* LA1777; il QTL *pw.2C* sembra putativamente con quello identificato nella IL2-4 di *S. pennellii* e l'allele della specie selvatica determina lo stesso effetto sul fenotipo (riduzione del carattere) in entrambe le popolazioni interspecifiche a confronto, infine il QTL *pw.3H*, identificato in questa tesi, e già localizzato nella stessa posizione da Di Dato (2009), sembra non co-localizzare con nessuno dei QTL identificati da Eshed e Zamir (1995) sul cromosoma 3 delle IL di *S. pennellii*.

*Produzione totale (TY)*. Per questo carattere sono stati identificati quattro QTL ed in tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione della produzione totale rispetto al controllo. Di questi il QTL *ty.2A* co-localizza con il QTL identificato nella stessa regione del cromosoma 2 delle IL di *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995), mentre i QTL *ty.7B* e *ty.12B* risultano precedentemente individuati sia nel 2010 e sia nel 2009 (Di Dato 2009).

*Produzione commerciale (RY)*. Per questo carattere sono stati identificati sei QTL significativi, dei quali quattro (*ry.2A*, *ry.2E*, *ry.7B* e *ry.12B*) mappano in corrispondenza degli stessi BIN nei quali mappano i QTL identificati per TY. Come per quest'ultimo carattere, l'allele della specie selvatica ha determinato sempre una riduzione della produzione commerciale rispetto al controllo.

Confrontando i risultati ottenuti in questo lavoro di tesi con quelli ottenuti analizzando popolazioni di AB di diverse specie selvatiche, è possibile evidenziare, che il QTL *ry.2E* è localizzato nella stessa regione del cromosoma 2 nelle popolazioni di AB di *S. arcanum* (Fulton *et al.* 1997) e di *S. habrochaites* (Bernacchi *et al.* 1998b). Infine i QTL *ry.7B* e *ry.12B* risultano di fatto già individuati negli anni 2009 e 2010.

*Contenuto in solidi solubili o Brix (BRX)*. Analizzando le IL, allevate nel 2011, per questo carattere sono stati identificati otto QTL e in tutti i casi l'allele della specie *S. habrochaites* ha determinato un aumento del contenuto in solidi solubili.

I risultati ottenuti in quest'anno di sperimentazione sono stati comparati con altri studi di "QTL mapping" ed è stato osservato che cinque QTL coinciderebbero con quanto già trovato da diversi autori in altre popolazioni di diverse specie selvatiche. Più precisamente il QTL *ssc2.1*, identificato nella popolazione AB di *S. pimpinellifolium* da Tanksley e collaboratori (1996), potrebbe corrispondere al QTL *brx.2C* (che determina un aumento del contenuto in solidi solubili pari al 34%), mentre *brx.4A*, identificato nel nostro lavoro di tesi, co-localizza con *brx4.1*, identificato da Fulton e collaboratori (2000) in una popolazione di AB di *S. neorickii*.

Infine, i QTL *brx.5F* e *brx.7B* risultano mappare nelle stesse posizioni nella popolazione di 40 sub-IL analizzata da Di Dato (2009).

*Produzione di solidi solubili (BRY)*. Per questo carattere sono stati identificati cinque QTL significativi e in tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato un decremento della produzione di solidi solubili. Questo carattere è stato valutato negli studi che hanno coinvolto le cinque popolazioni di AB sviluppate in pomodoro ed anche nella popolazione di IL di *S. pennellii* (Eshed e Zamir 1995).

Tra i QTL identificati in questo lavoro di tesi, *bry.7B* sembra coincidere con quello identificato nella popolazione di AB di *Solanum pimpinellifolium* (Tanksley *et al.* 1996), mentre il QTL *bry.12B* co-localizza con quello identificato nella popolazione di AB di *S. habrochaites* (Bernacchi *et al.* 1998b).

*Spessore del pericarpo (PER)*. Per questo carattere sono stati identificati tre QTL ed in tutti i casi l'allele di *S. habrochaites* ha determinato una diminuzione dello spessore del pericarpo. Questi tre QTL non sembrano di fatto essere stati identificati nei precedenti esperimenti che hanno utilizzato popolazioni di AB. Invece, il QTL *per.7C* co-localizza con quello identificato sul cromosoma 7 da Di Dato (2009).

*Scatolatura del frutto (PUFF)*. Per questo carattere sono stati identificati cinque QTL e per quattro di essi (*puff.2B*, *puff.2E*, *puff.4A* e *puff.5E*) l'allele di *S. habrochaites* LA1777 ha determinato una diminuzione del carattere.

I risultati riportati in questa tesi, se confrontati con i risultati ottenuti analizzando la popolazione di AB di *S. neorickii* (Fulton *et al.* 2000), evidenziano che due QTL (*puff.2E* e *puff.5B*) sembrano coincidere con quelli identificati proprio in questa popolazione. Anche per quest'anno di prova il QTL *puff.9B*, co-localizza con il QTL *puff.9.1*, identificato nella popolazione di AB di *S. arcanum* (Fulton *et al.* 1997), ma, contrariamente a quanto riportato proprio in quest'ultima specie selvatica, il QTL *puff.9B* ha determinato un aumento della scatolatura dei frutti.

*Colore esterno (EC) ed interno (IC) del frutto*. Analizzando le 66 IL, allevate nel 2011, per questo carattere sono stati identificati sette QTL significativi per il colore esterno del frutto e nove per quello interno. L'allele della specie selvatica ha determinato un aumento del colore esterno per tre QTL ed un aumento del colore interno per cinque QTL.

Riguardo ad altre popolazioni di IL, il colore interno del frutto è stato valutato su una popolazione di 76 IL di *S. pennellii* (acc. LA716) (Liu *et al.* 2003), allevata in condizioni di asciutto ed irriguo, e diversi QTL identificati per questo carattere sono risultati influenzati dalle condizioni ambientali. In totale, Liu e collaboratori (2003) hanno mostrato l'esistenza di 19 QTL per il colore interno del frutto, e 10 di questi QTL hanno mostrato segregazione trasgressiva, in quanto l'allele della specie selvatica ha determinato un aumento dell'intensità del colore rosso dei frutti. Sei di questi QTL sono risultati significativi in entrambe le condizioni di coltivazione (asciutto ed irriguo).

Cinque dei QTL identificati, in questo lavoro di tesi, per il colore interno del frutto (*ic.2G*; *ic.3C*; *ic.4F*; *ic.7B* e *ic.8A*) sembrano coincidere proprio con cinque di quelli riportati da Liu e collaboratori (2003). Tuttavia, confrontando i nostri risultati con quelli riportati in quest'ultimo lavoro, è possibile notare che per un solo QTL (quello posizionato sul cromosoma 4) l'allele della specie selvatica di entrambe le specie selvatiche (*S. habrochaites* e *S. pennellii*) ha prodotto lo stesso effetto (aumento della colorazione interna del frutto). Per gli altri quattro QTL ortologi, identificati nel nostro lavoro di tesi (*ic.1B*, *ic.1D*, *ic.3A* e *ic.6C*), l'allele della specie selvatica *S.*

*habrochaites* LA1777 ha determinato un aumento del colore nella corrispondente popolazione di IL ed una riduzione dello stesso carattere nelle IL della specie *S. pennellii* (Liu *et al.* 2003).

Con riferimento al colore esterno, è possibile evidenziare che tra i QTL identificati in questo lavoro di tesi, per i quali l'allele della specie selvatica (*S. habrochaites* LA1777) ha determinato un aumento del carattere (*ec.2C*, *ec.7B* e *ec.10A*), il QTL *ec.7B*, già identificato da Di Dato (2009), sembra particolarmente favorevole in quanto ha incrementato la colorazione rossa del 31,2%. Inoltre, il QTL *ec.2c* coincide con quello individuato da Fulton e collaboratori (2000) nella popolazione AB di *S. neorickii*.

In quest'anno di sperimentazione (2011), si confermano i QTL *ec.2G*, *ec.6E* ed *ec.8A*, identificati nel 2010.

Diversi studi di mappatura hanno identificato numerosi QTL, distribuiti su tutti e 12 i cromosomi, che influenzano il colore rosso dei frutti. Sorprendentemente, i QTL che migliorano questo importante carattere di qualità, sono stati identificati non solo nelle specie selvatiche a frutto rosso (*S. pimpinellifolium*), ma anche nelle specie a frutto verde *S. habrochaites*, *S. arcanum*, *S. neorickii* e *S. pennellii*. E' da notare che alcuni di questi QTL sostanzialmente migliorano l'intensità del colore rosso, una volta introgressi nel background genetico della specie. Questo è il caso, ad esempio, del QTL che mappa nella parte inferiore del cromosoma 4: le NIL IL4-4, TA1160 e TA517, che portano introgressioni, per questa regione, da *S. pennellii*, *S. arcanum* e *S. habrochaites*, rispettivamente, hanno mostrato un aumento nell'intensità del colore rosso che è variato dal 52% per IL4-4 all'84% per TA1160 (Monforte *et al.* 2001). Questi risultati sono di particolare interesse in considerazione del fatto che tutte e tre le specie selvatiche producono frutti verdi e mancano di un enzima attivo nell'ultimo "step" del "pathway" di biosintesi del licopene; gli alleli selvatici potrebbero pertanto alterare "step" precedenti della via biosintetica del carotenoide.

## CAPITOLO II

### **Analisi QTL per caratteri agronomici in una popolazione AB di *S. habrochaites* LA1721**

#### **2.1 Introduzione**

La metodologia AB-QTL è stato proposto come strategia di breeding molecolare mirata ad una migliore utilizzazione della variabilità genetica conservata nel germoplasma selvatico delle specie coltivate (Tanksley e Nelson 1996; Tanksley *et al.* 1996). Il metodo AB-QTL è stato ampiamente utilizzato in pomodoro, dove è stato applicato a sei differenti popolazioni derivanti da incroci tra il *S. lycopersicum* (cv. E6203, cultivar da industria) e cinque specie selvatiche: *S. pimpinellifolium* (acc. LA1589) (Grandillo e Tanksley 1996a; Tanksley *et al.* 1996; Fulton *et al.* 2002b), *S. arcanum* (acc. LA1708) (Fulton *et al.* 1997, 2002b), *S. habrochaites* (acc. LA1777) (Bernacchi *et al.* 1998a, 1998b; Fulton *et al.* 2002b), *S. neorickii* (acc. LA2133) (Fulton *et al.* 2000; 2002b), *S. pennellii* (acc. LA1657) (Frery *et al.* 2004b). Tutte le popolazioni sono state genotipizzate ed allevate in prove di campo replicate in diverse località e valutate per numerosi caratteri importanti per il pomodoro da industria. In ognuno di questi studi è stato possibile identificare QTL derivanti dalle specie selvatiche con effetti favorevoli per numerosi caratteri di interesse agronomico, incluso caratteri per i quali le specie selvatiche mostravano fenotipi sfavorevoli (Grandillo *et al.* 2008, 2011a).

L'obiettivo di questo progetto di ricerca è stato quello di applicare il metodo di analisi AB-QTL ad un'altra accessione selvatica di pomodoro, *S. habrochaites* LA1721, per valutare le sue potenzialità come fonte di QTL utili per caratteri influenzanti la produzione e la qualità del frutto.

Questo studio è il risultato di una collaborazione tra la Dr. Silvana Grandillo del CNR-IGV, Portici ed il Dr. Steven D. Tanksley e la Dr. Theresa Fulton della Cornell University (CU), USA.

## 2.2 Materiali e metodi

### 2.2.1 Materiale vegetale

Una singola pianta della specie selvatica *S. habrochaites* (acc. LA1721) è stata incrociata con *S. lycopersicum* TA496 (cv. E6203 + Tm2a) e successivamente una singola pianta F<sub>1</sub> è stata reincrociata per ottenere la generazione BC<sub>1</sub>. La popolazione BC<sub>1</sub> di circa 200 piante è stata allevata presso le serre della Cornell University, NY. Il marcatore CAPS, TG279, è stato utilizzato per genotipizzare la popolazione BC<sub>1</sub> al fine di selezionare gli individui omozigoti al locus “self-pruning” (*SP*), del cromosoma 6 per gli alleli del parentale coltivato. Il genotipo *sp/sp* conferisce un habitus di crescita determinato, carattere importante per il pomodoro da industria. Il marcatore TG279 è posizionato a circa 3 cM dal locus *SP* (Grandillo e Tanksley 1996b). Le piante BC<sub>1</sub> selezionate sono state incrociate con *S. lycopersicum* TA496 per produrre la generazione BC<sub>2</sub>. Un totale di 19 piante BC<sub>2</sub> sono state allevate presso le serre della Cornell University, NY ed incrociate con la linea TA496 di *S. lycopersicum* per produrre 199 famiglie BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> da sottoporre a valutazione fenotipica in campo. Le 199 piante BC<sub>2</sub> sono state analizzate con marcatori molecolari SSR e CAPS.

### 2.2.2 Analisi molecolare della popolazione

L'estrazione del DNA genomico dei parentali *S. lycopersicum* (acc. TA496) e *S. habrochaites* (acc. LA1721) e delle 199 piante BC<sub>2</sub> è stata effettuata come descritto da Fulton *et al.* (1995). I marcatori CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) sono stati sviluppati a partire da marcatori RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) e sequenze EST (Expressed Sequence Tag) (Fulton *et al.* 2002a) disponibili presso i database dell'SGN (Mueller *et al.* 2005, <http://solgenomics.net/>). I primer per i marcatori CAPS sono stati disegnati utilizzando il software PRIMER3 (Rozen e Skaletsky 1997). Le reazioni di PCR sono state eseguite in un volume totale di 25 µL, contenente 50 ng di DNA templatato, 2,5 pmol di ogni primer forward e reverse, dNTP ad una concentrazione di 0,2 mM, 2,5 µL di tampone PCR 10X (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>) e 0,2 unità dell'enzima *Taq* polimerasi. La reazione di amplificazione consisteva di una denaturazione iniziale per 5 min. a 94°C, seguita da 35 cicli di amplificazione con denaturazione a 94°C per 60 sec., annealing a 55°C per 90 sec. ed elongazione a 72°C per 2 min. Alla fine del 35° ciclo è stato effettuato un ulteriore ciclo a 72°C per 8 min. Dopo l'amplificazione,

i prodotti PCR sono stati visualizzati mediante elettroforesi su gel di agarosio all'1% in buffer TAE 1X, utilizzando un voltaggio di 100V per circa un'ora a temperatura ambiente. Le reazioni PCR sono state effettuate utilizzando una macchina PCR MJ Research Peltier Thermal Cycler (PTC-225; Waltham, Mass). I prodotti dell'amplificazione sono stati, in seguito, sottoposti a digestione enzimatica con endonucleasi di restrizione specifiche. Per ogni campione sono stati utilizzati, in un volume finale di 15 mL, 10 mL di DNA amplificato, 1,5 mL di tampone 10X specifico dell'enzima usato e 0,2 µl del relativo enzima di restrizione (10U/µl). La reazione è stata incubata alla temperatura appropriata per 2-3 ore e l'individuazione dei polimorfismi è stata effettuata mediante elettroforesi su gel di agarosio al 2-3% dei campioni digeriti. Per le regioni del genoma dove non sono stati trovati marcatori CAPS polimorfici, sono stati utilizzati marcatori SSR "Simple Sequence Repeats" messi a punto secondo il protocollo di Tautz del 1989. Per i microsatelliti (SSR o *Single Sequence Repeats*) è stato utilizzato lo stesso profilo termico dei marcatori CAPS.

Le sequenze dei primer utilizzati per i marcatori SSR e CAPS sono disponibili sul sito <http://solgenomics.net>. I marcatori risultati polimorfici fra i parentali sono stati utilizzati per genotipizzare la popolazione costituita da 199 piante BC<sub>2</sub>.

### **2.2.3 Valutazione fenotipica della popolazione**

Al fine di identificare QTL per i caratteri che controllano la produzione, le caratteristiche morfologiche e la qualità della bacca di pomodoro sono state utilizzate le famiglie BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> derivate da 199 piante BC<sub>2</sub>. Le piante sono state cresciute in due differenti località della California (località 1 = P, e località 2 = H). La sperimentazione è stata effettuata adottando un disegno sperimentale con parcelle randomizzate di 15 piante ciascuna, insieme a sei parcelle della linea controllo TA496.

Per la valutazione fenotipica sono stati presi in considerazione i seguenti 13 caratteri agronomici:

*Produzione potenziale* (YPOT). La produzione potenziale è stata stimata visivamente considerando tutte le piante presenti in una parcella, utilizzando una scala da 1 (produzione bassa) a 10 (produzione alta).

Ulteriori misurazioni sono state fatte alla raccolta su un minimo di 10 frutti per parcella per i seguenti caratteri: peso medio del frutto, consistenza, colore interno del frutto, spessore del pericarpo e scioltura.

*Peso medio del frutto* (FW). Il peso medio del frutto espresso in grammi, ed è stato determinato utilizzando un campione di almeno 10 frutti maturi per parcella.



*Consistenza del frutto (FIR).* La consistenza del frutto è stata valutata in modo soggettivo mediante pressione manuale di almeno 10 frutti maturi ed è stata utilizzata una scala numerica da 1 (poco consistente) a 10 (molto consistente).

*Colore interno del frutto (IC).* Il colore interno è stato rilevato visivamente, analizzando la sezione trasversale del frutto ed utilizzando una scala di punteggio che va da 1 (colore tenue) a 10 (colore intenso).

*Spessore del pericarpo (PER).* Lo spessore del pericarpo (o parete) è stato valutato sulla sezione trasversale del frutto utilizzando una scala visiva da 1 (pericarpo sottile) a 10 (pericarpo spesso).

*Scatolatura del frutto (PUF).* La scatolatura indica la quantità di spazio vuoto osservato nei loculi di frutti freschi tagliati trasversalmente. Il carattere è stato valutato utilizzando una scala visiva da 1 (senza scatolatura) a 10 (frutti molto scatolati).

In entrambe le località, per ogni parcella sono stati campionati 1,36 Kg di frutti rossi maturi su cui sono stati misurati i seguenti parametri: contenuto in solidi solubili e viscosità della polpa e del succo come riportato da Yates *et al.* (2004). Inoltre, aliquote congelate del succo dei frutti sono state usate per misurare il contenuto di acidi totali ed acidi organici totali, il pH ed il contenuto in licopene come riportato da Yates *et al.* (2004).

*Contenuto in solidi solubili del frutto o brix (BRX).* Il contenuto totale in solidi solubili (o brix) nei frutti di pomodoro comprende gli zuccheri ed in misura minore gli acidi organici; questo carattere è un parametro importante per il pomodoro da industria. Il brix è stato misurato in entrambe le località utilizzando un rifrattometro (°Brix) come descritto da Tanksley *et al.* (1996).

*Viscosità della passata (PBOS).* Il consistometro di Bostwick è stato utilizzato sulla passata, e la misura della viscosità è stata espressa in cm di migrazione in 30 secondi a 25°C. Un valore basso di questo parametro indica alta viscosità (desiderabile).

*Viscosità del succo del (JBOS).* La viscosità del succo del frutto è stata misurata come riportato per la passata. Un valore basso di questo parametro indica alta viscosità (desiderabile).

*Acidi totali (TA), acidi organici totali (TOA) e pH (pH)* sono stati misurati come descritto da Yates *et al.* (2004).

*Licopene (LYC).* Il licopene è stato misurato in parti per milione come descritto da Yates *et al.* (2004).

#### 2.2.4 Analisi dei dati

La segregazione di ciascun marcatore è stata analizzata mediante il test chi-quadro per valutare il grado di deviazione della frequenza di eterozigoti osservata ad ogni locus rispetto a quella attesa per una popolazione BC<sub>2</sub> (25%), utilizzando il programma statistico QGene (QGene software, Nelson 1997).

I coefficienti di correlazione di Pearson tra i caratteri sono stati calcolati per ciascuna località utilizzando il programma statistico QGene.

Per l'identificazione di QTL è stato seguito l'approccio standard basato sull'analisi statistica (ANOVA, regressione) dell'associazione tra carattere e genotipi, ad ogni locus ("single-point analysis"), ed utilizzando lo stesso programma statistico. Un QTL viene riportato solo se osservato in entrambe le località con un  $p < 0,05$ , oppure se viene riportato in almeno una località con  $p < 0,01$ . La percentuale di varianza fenotipica spiegata (%PV) da un dato QTL corrisponde all' $R^2$  dell'analisi di regressione, espressa in %. Ai livelli di significatività di ogni QTL sono stati assegnati dei segni +/- che indicano se l'allele selvatico contribuisce, rispettivamente, ad aumentare o a ridurre il carattere.

### 2.3 Risultati

#### 2.3.1 Analisi di segregazione

Un totale di 88 marcatori basati sulla PCR (43 SSR e 45 CAPS) sono stati utilizzati per la genotipizzazione delle 199 piante BC<sub>2</sub>. Questi marcatori sono distribuiti su tutti i 12 cromosomi del pomodoro (Tabelle 10 e 11), con una distanza media tra i marcatori di ca. 16 cM. Per sei regioni, definite "gap" e distribuite sui cromosomi 1, 3, 4, 5 e 7, la distanza tra marcatori è risultata  $>30$  cM.

29 (33%) marcatori mostrano una deviazione statisticamente significativa ( $p < 0,01$ ) della frequenza di eterozigoti rispetto a quella attesa del 25% (**Tab. 10**), con una percentuale media di eterozigoti per locus del 19%. In tutti i casi, fatta eccezione per i marcatori T1738 e CT114 alla base del cromosoma 7, la distorsione della segregazione risulta a favore dell'allele del parentale coltivato *S. lycopersicum* (L/L). La segregazione distorta interessa loci distribuiti su tutti i cromosomi fatta eccezione per i cromosomi 3 e 10. 15 (17%) marcatori, localizzati sui cromosomi 4, 6, 8, 9, 11 e 12, mostrano una segregazione distorta rispetto a quella attesa a  $p < 0,0001$ . La regione del locus *self-pruning* (SP) localizzato sul cromosoma 6 tra i marcatori TG275 e TG279 mostra una forte

deviazione della segregazione a favore dell'allele del parentale coltivato (SL), che conferisce un habitus di crescita determinato.

**Tab. 10.** Deviazioni dalla frequenza attesa degli individui eterozigoti nella popolazione BC<sub>2</sub> per l'incrocio *S. lycopersicum* x *S. habrochaites* acc. LA1721 (L = allele *S. lycopersicum*, HB = allele *S. habrochaites*).

Locus	Crom.	Posizione di mappa <sup>a</sup> cM	Genotipo <sup>b</sup>		Frequenza Eterozigoti (%)	
			L/L	L/HB		
TG58	1	21,5	158	34	17,7	
SSR51	1	39,5	164	33	16,8	**
SSR134	1	43,3	157	36	18,7	
T1409	1	77	123	48	28,1	
SSR222	1	97,5	143	50	25,9	
CT267	1	114	111	37	25,0	
SSR308	1	121	136	56	29,2	
SSR117	1	138	150	48	24,2	
SSR65	1	159	148	46	23,7	
cLEC-7-P21	2	0	167	28	14,4	***
SSR40	2	22	158	39	19,8	
SSR356	2	44	146	40	21,5	
SSR349	2	47,5	141	43	23,4	
SSR605	2	48,5	153	44	22,3	
T0562	2	71	113	48	29,8	
SSR26	2	77,5	145	51	26,0	
FW2.2	2	117	141	46	24,6	
T1480	2	106	135	44	24,6	
T0634	2	130	134	41	23,4	
TG585	3	40	148	48	24,5	
cLPT-2-E21	3	61	148	39	20,9	
SSR111	3	73,9	149	34	18,6	
SSR22	3	99	156	36	18,8	
T0794	3	120	149	44	22,8	
SSR320	3	158	160	36	18,4	
SSR11	3	164	156	40	20,4	
SSR27	3	169	157	42	21,1	
T707	4	0	179	18	9,1	****
SSR310	4	58	193	4	2,0	****
T1405	4	77	189	7	3,6	****
SSR146	4	102	168	30	15,2	**
SSR188	4	135,5	156	29	15,7	**
cLEX-13-I3A	5	13	147	47	24,2	
SSR115	5	35	156	41	20,8	
cLEX13G5	5	79	165	33	16,7	**
TG23	5	99	151	32	17,5	
T633	5	119	157	37	19,1	
T892	6	14	155	37	19,3	
T507	6	25	158	35	18,1	
SSR128	6	35	160	38	19,2	
SSR578	6	44	172	25	12,7	***
TG275	6	68,6 <sup>§</sup>	196	-	0,0	****
TG279	6	80	155	3	1,9	****
SSR350	6	101	183	15	7,6	****

**Tab. 10** – *continua*

Locus	Crom.	Posizione di mappa <sup>a</sup> cM	Genotipo <sup>b</sup>		Frequenza Eterozigoti (%)	
			L/L	L/HB		
SSR241	7	0	166	27	14,0	***
SSR52	7	3	177	21	10,6	****
SSR45	7	60	128	58	31,2	
T1738	7	72,5	118	68	36,6	***
CT114	7	96	123	68	35,6	***
SSR344	8	4	193	4	2,0	****
SSR244	8	7	199	-	0,0	****
SSR327	8	22,5	199	-	0,0	****
TG302	8	37	158	30	16,0	**
SSR38	8	55	165	34	17,1	
SSR594	8	55	163	34	17,3	
T1359	8	73	146	38	20,7	
CT68	8	87	149	43	22,4	
TG18	9	14	141	51	26,6	
T1617	9	39	132	22	14,3	**
SSR70	9	42	174	22	11,2	****
SSR383	9	57,3	176	7	3,8	****
T1190	9	77	146	41	21,9	
T1519	9	90	146	40	21,5	
T1065	9	116	135	52	27,8	
TG230	10	0	147	43	22,6	
TG303	10	11	150	46	23,5	
SSR34	10	25,3	155	44	22,1	
SSR218	10	33,7	158	40	20,2	
SSR318	10	34,5	141	56	28,4	
SSR248	10	35	145	46	24,1	
SSR85	10	55	149	47	24,0	
T1682	10	66	140	54	27,8	
SSR223	10	75	131	54	29,2	
TG497	11	1	149	34	18,6	
SSR80	11	20	166	29	14,9	**
SSR67	11	24	156	20	11,4	****
SSR46	11	40	172	19	9,9	****
TG400	11	57	159	33	17,2	
cLEC-24-C3	11	76	155	34	18,0	
T302	11	89	154	38	19,8	
TG393	11	103	143	42	22,7	
TG180	12	9	146	27	15,6	**
TG68	12	21	171	8	4,5	****
cLET-8-K4	12	41	161	34	17,4	
SSR44	12	60	145	21	12,7	***
T801	12	74	157	33	17,4	
T1305	12	90	148	31	17,3	
T800	12	118	146	46	24,0	

\*\*,\*\*\*,\*\*\*\* livello di significatività per  $p \leq 0,01$ ,  $0,001$  e  $0,0001$ .

<sup>a</sup> la posizione dei marcatori è relativa alla mappa Tomato-EXPEN 2000 (<http://solgenomics.net>), fatta eccezione per i casi indicati con (§) che si riferiscono alla mappa EXPEN 1992;

<sup>b</sup> numero degli individui L/L e L/HB della popolazione BC<sub>2</sub>

nd: non disponibile

### 2.3.2 Correlazioni tra caratteri

Correlazioni statisticamente significative ( $p < 0,01$ ) sono state riscontrate fra molti dei caratteri analizzati nelle due località. Buone correlazioni positive ( $p < 0,01$ ) sono state osservate in entrambe le località fra TA e TOA ( $r = 0,95$  per la località P e  $r = 0,9$  per la località H), tra PBOS e JBOS ( $r = 0,58$  per H e  $r = 0,56$  per P) e tra PBOS e BRX ( $r = 0,65$  per H e  $r = 0,66$  per P). Correlazioni positive meno forti sono state osservate fra BRX e TA nella località P ( $r = 0,35$ ), fra FW e YPOT ( $r = 0,34$  per H e  $r = 0,45$  per P), fra FW e PER ( $r = 0,41$  per H e  $r = 0,34$  per P). Al contrario buone correlazioni negative sono state rilevate fra TA e pH ( $r = -0,51$  per H e  $r = -0,42$  per P), fra TA e FW ( $r = -0,47$  per H e  $r = -0,35$  per P), IC e FIR nella località P ( $r = -0,44$ ), fra BRX e FW ( $r = -0,37$  in entrambe le località), fra TA e YPOT ( $r = -0,37$  in entrambe le località), e fra TOA e YPOT ( $r = -0,31$  per H e  $r = -0,32$  per P), fra FIR e JBOS ( $r = -0,29$  per H e  $r = -0,25$  per P), fra BRX e JBOS ( $r = -0,29$  per H e  $r = -0,25$  per P).

### 2.3.3 QTL identificati per ciascun carattere

Per i 13 caratteri analizzati in entrambe le località sulle famiglie BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> di *S. lycopersicum* x *S. habrochaites* (acc. LA1721) sono stati identificati 99 QTL statisticamente significativi (con un  $p < 0,05$  in entrambe le località, oppure con  $p < 0,01$  in almeno una località), con un minimo di tre QTL significativi mappati per il carattere FIR ed un massimo di 15 QTL per il carattere FW. I QTL sono stati identificati su tutti i 12 cromosomi con il numero più alto di loci trovati sul cromosoma 2 (17 QTL) ed il più basso sul cromosoma 7 (1 QTL). Un totale di 55 (56%) QTL significativi sono stati identificati in entrambe le località. I QTL identificati per ciascun carattere sono elencati e descritti in **Tab. 11**, e le loro posizioni sulla mappa genetica sono mostrate in **Fig. 10**.

Di seguito viene riportata la descrizione dei QTL identificati per ciascuno dei 13 caratteri.

Per la *produzione potenziale* (YPOT) sono stati identificati 10 QTL significativi, localizzati sui cromosomi 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10 e 12. In tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere. Il QTL con l'effetto maggiore *ypot2.2* (PV = 11,6 %) mappa sul cromosoma 2, e quello con effetto minore, *ypot6.1* (PV=3,3%) mappa sul cromosoma 6. Gli altri otto QTL hanno valori di PV minori di 9,5%. Sei (60%) QTL sono risultati significativi in entrambe le località.

Per il *peso medio del frutto* (FW) sono stati identificati 15 QTL significativi, localizzati sui cromosomi 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11 e 12. In tutti i casi, l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere. Il QTL con effetto maggiore *fw2.3* (PV=14,7%) mappa alla base del cromosoma 2, ed altri cinque QTL con PV>10% sono localizzati sui cromosomi 4, 7, 9 e 10. Gli altri nove QTL hanno valori di PV compresi tra 4,9% e 8,8%. 12 (80%) QTL sono stati identificati in entrambe le località.

Per la *consistenza del frutto* (FIRM) sono stati identificati tre QTL significativi sui cromosomi 1, 2 e 4. In tutti i casi, l'allele di *S. habrochaites* ha determinato un aumento della consistenza del frutto, con PV del 9% (*fir1.1*), 6,4% (*fir4.1*) e 6,1% (*fir 2.1*). Il QTL del cromosoma 4 è stato identificato in entrambe le località.

Per il *colore interno del frutto* (IC) sono stati identificati cinque QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 8, 9, 10 e 12. In tutti i casi, l'allele del parentale selvatico ha determinato una riduzione dell'intensità del colore rosso. Il QTL con effetto maggiore sul fenotipo è stato *ic8.1* (PV=12,8 %), e quello con effetto minore è *ic1.1* (PV=4,8%). Gli altri tre QTL hanno

mostrato valori di PV compresi fra 7,2 e 8,6%. Quattro (80%) QTL sono risultati significativi in entrambe le località.

Per lo *spessore del pericarpo* (PER) sono stati identificati sei QTL significativi sui cromosomi 2, 4, 6, 10 e 11. In tutti i casi, i valori di PV sono < 10% e l'allele di *S. habrochaites* LA1721 ha determinato una riduzione dello spessore del pericarpo. Un singolo QTL (17%), *per10.1*, è stato identificato in entrambe le località.

Per la *scatolatura del frutto* (PUFF) sono stati identificati cinque QTL sui cromosomi 2, 3, 10 e 11. Per sei QTL l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione della scatolatura. In tutti i casi i valori di PV sono risultati <8 %, ed un singolo QTL, *puf11.1*, è stato mappato in entrambe le località.

Per il *contenuto in solidi solubili o brix* (BRX) sono stati identificati nove QTL significativi posizionati sui cromosomi 1, 2, 3, 4, 9, 10 e 11. In tutti i casi, l'allele di *S. habrochaites* ha portato ad un aumento del carattere. Il QTL con effetto maggiore sul fenotipo è stato *brx4.1* (PV = 11,9%). Gli altri otto QTL hanno valori di PV compresi fra 4,2% (*brx2.1*) e 9,8% (*brx3.1*). Quattro QTL (44,4%) sono risultati significativi in entrambe le località.

Per il carattere *contenuto in licopene* (LYC) sono stati individuati quattro QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 8, 9 e 12, con valori di PV<6%. In tutti i casi, l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere. I quattro QTL sono risultati significativi in una singola località (p<0,01).

Per la *viscosità del succo* (JBOS), misurata in centimetri Bostwick, sono stati identificati sette QTL significativi, localizzati sui cromosomi 2, 4, 6, 8, 9 e 12. In tutti i casi, fatta eccezione per il QTL *jbos4.1* (PV=18,1%), l'allele della specie selvatica ha determinato una diminuzione di tale carattere, ossia un aumento della viscosità. Il QTL con effetto maggiore e positivo sul carattere è stato *jbos6.1* (PV=11,7%); gli altri cinque QTL per i quali l'allele di *S. habrochaites* ha determinato un aumento della viscosità hanno mostrato valori di PV compresi tra un di 4,6% (*jbos4.2*) ed un massimo di 7,0% (*jbos2.1*). Tre QTL (43%) sono stati identificati in entrambe le località.

Per la *viscosità della passata* (PBOS), sono stati identificati sei QTL significativi, localizzati sui cromosomi 3, 4, 6, 10, 11 e 12, con PV≤8,2%. Per i QTL *pbos6.1* (PV=6,2%) e *pbos12.1* (PV=6,0%) l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione dei centimetri Bostwick, e pertanto un aumento della viscosità. Quattro QTL (66,7%) sono risultati significativi in entrambe le località.



Per il *pH* (pH) sono stati identificati cinque QTL significativi, sui cromosomi 2, 10 e 11. In tutti i casi, fatta eccezione per il QTL del cromosoma 11, *ph11.1*, l'allele di *S. habrochaites* determina una riduzione del pH. Il QTL con effetto maggiore, *ph2.3*, mappa alla base del cromosoma 2 e spiega il 24,2% della varianza fenotipica totale. Questo QTL è risultato altamente significativo ( $p < 0,0001$ ) in entrambe le località. Sul cromosoma 2 è localizzato un altro QTL con effetto maggiore sul fenotipo, *ph2.2* (PV= 14,6%). Gli altri tre QTL hanno valori di PV compresi tra 4,3 e 6,3%. Tre QTL (60%) sono stati identificati in entrambe le località.

Per gli *acidi organici totali* (TOA) sono stati identificati 11 QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 3, 4, 6, 9, 10 e 11. In tutti i casi, l'allele della specie selvatica ha determinato un incremento degli acidi organici totali. Tre QTL spiegano più del 10% della varianza fenotipica totale: *toa2.1* (PV=12,9%), *toa2.2* (PV=12,7%) e *toa6.2* (PV=11,3%). Per gli altri otto QTL i valori di PV variano dal 4,6% per *toa1.1* al 9,6% per *toa3.1*. Sei (54,5%) QTL sono stati mappati in entrambe le località.

Per gli *acidi totali* (TA) sono stati identificati 13 QTL significativi, localizzati sui cromosomi 1, 2, 3, 4, 6, 9, 10 e 11. In tutti i casi, l'allele di *S. habrochaites* LA1721 ha determinato un incremento del carattere. Anche in questo caso, analogamente a quanto osservato per TOA, i due QTL con effetto maggiore sul fenotipo, *ta2.2* (PV=20,3%) e *ta2.1* (PV=15%), sono stati identificati sul cromosoma 2. L'altro QTL con effetto maggiore, *ta3.1* (PV = 10,1%) mappa sul cromosoma 6. 10 dei 13 QTL (77,0%) sono risultati significativi in entrambe le località.

**Tab. 11.** QTL statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ) identificati per ciascuno dei tredici caratteri analizzati nelle famiglie BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub> di *S. lycopersicum* x *S. habrochaites* (acc. LA1721). I nomi dei QTL sono definiti dall'abbreviazione del carattere, seguiti dal numero del cromosoma; un secondo numero è utilizzato per distinguere diversi QTL che mappano sullo stesso cromosoma. P=località 1, CA, USA; H=località 2, CA, USA. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ . ns = non significativo, "+/-" indicano che l'allele selvatico aumenta o diminuisce rispettivamente il carattere. %PV= indica la percentuale di varianza fenotipica spiegata. I riquadri indicano la località per la quale è stata calcolata la %PV.

Carattere	QTL	Crom.	Marcatore	Posizione di mappa (cM)	P	H	%PV
Produzione potenziale (YPOT)	<i>ypot2.1</i>	2	SSR40	22	** <sub>-</sub>	*** <sub>-</sub>	7,1
	<i>ypot2.2</i>	2	FW2.2	117	* <sub>-</sub>	**** <sub>-</sub>	11,6
	<i>ypot4.1</i>	4	T1405	77	ns	** <sub>-</sub>	5,7
	<i>ypot5.1</i>	5	cLEX13G5*-TG23	79-99	**** <sub>-</sub>	*** <sub>-</sub>	9,4
	<i>ypot6.1</i>	6	SSR578	44	* <sub>-</sub>	* <sub>-</sub>	3,3
	<i>ypot8.1</i>	8	T1359	73	ns	** <sub>-</sub>	5,5
	<i>ypot9.1</i>	9	TG18	14	** <sub>-</sub>	ns	5,1
	<i>ypot9.2</i>	9	T1519	90	ns	** <sub>-</sub>	4,9
	<i>ypot10.1</i>	10	SSR223	75	** <sub>-</sub>	* <sub>-</sub>	4,9
	<i>ypot12.1</i>	12	SSR44	60	* <sub>-</sub>	* <sub>-</sub>	5,2
Peso del frutto (FW)	<i>fw2.1</i>	2	SSR40	22	** <sub>-</sub>	** <sub>-</sub>	6,6
	<i>fw2.2</i>	2	FW2.2	117	** <sub>-</sub>	** <sub>-</sub>	7,3
	<i>fw2.3</i>	2	T0634	130	** <sub>-</sub>	**** <sub>-</sub>	14,7
			cLPT2E21-				
	<i>fw3.1</i>	3	SSR111*	61-73,9	**** <sub>-</sub>	*** <sub>-</sub>	7,8
	<i>fw4.1</i>	4	SSR146	102	**** <sub>-</sub>	*** <sub>-</sub>	10,0
	<i>fw5.1</i>	5	cLEX13I3A	13	** <sub>-</sub>	* <sub>-</sub>	6,6
	<i>fw6.1</i>	6	SSR128-SSR578*	35-44	* <sub>-</sub>	*** <sub>-</sub>	8,8
	<i>fw7.1</i>	7	SSR45	60	**** <sub>-</sub>	*** <sub>-</sub>	11,2
	<i>fw9.1</i>	9	T1617	39	** <sub>-</sub>	ns	7,7
	<i>fw9.2</i>	9	T1519	90	**** <sub>-</sub>	*** <sub>-</sub>	10,8
	<i>fw9.3</i>	9	T1065	116	* <sub>-</sub>	**** <sub>-</sub>	11,8
	<i>fw10.1</i>	10	TG303	11	* <sub>-</sub>	** <sub>-</sub>	6,3
	<i>fw11.1</i>	11	T302	89	*** <sub>-</sub>	**** <sub>-</sub>	11,2
	<i>fw12.1</i>	12	cLET8K4	41	*** <sub>-</sub>	ns	8,7
	<i>fw12.2</i>	12	T801	118	** <sub>-</sub>	ns	4,9
Consistenza del frutto (FIR)	<i>fir1.1</i>	1	SSR134	43,3	ns	***+	9,0
	<i>fir2.1</i>	2	FW2.2	117	**+	ns	6,1
	<i>fir4.1</i>	4	SSR146	102	**+	**+	6,4
Colore interno del frutto (IC)	<i>ic1.1</i>	1	CT267	114	* <sub>-</sub>	* <sub>-</sub>	4,8
	<i>ic8.1</i>	8	TG302-SSR38*	37-55	**** <sub>-</sub>	** <sub>-</sub>	12,8
	<i>ic9.1</i>	9	SSR70	42	** <sub>-</sub>	*** <sub>-</sub>	7,4

Tab. 11 – continua

Carattere	QTL	Crom.	Marcatore	Posizione di mappa (cM)	P	H	%PV
	<i>ic10.1</i>	10	SSR223	75	**_	ns	7,2
	<i>ic12.1</i>	12	SSR44	60	**_	***_	8,6
Spessore del pericarpo (PER)	<i>per2.1</i>	2	SSR26	77,5	**_	ns	5,3
	<i>per4.1</i>	4	SSR310	58	ns	***_	7,5
	<i>per4.2</i>	4	SSR188	135,5	**_	ns	6,7
	<i>per6.1</i>	6	SSR578	44	ns	***_	7,9
	<i>per10.1</i>	10	TG230*-TG303	0-11	*_	*_	3,6
	<i>per11.1</i>	11	T302	89	ns	**_	5,9
Scatolatura del frutto (PUF)	<i>puf2.1</i>	2	T0562	71	ns	**+	7,7
	<i>puf3.1</i>	3	SSR22	99	**_	ns	6,2
	<i>puf10.1</i>	10	TG230	0	ns	**_	6,8
	<i>puf10.2</i>	10	T1682	66	**+	ns	4,9
	<i>puf11.1</i>	11	cLEC24C3	76	**_	**_	6,4
Contenuto in solidi solubili (BRX)	<i>brx1.1</i>	1	CT267	114	**+	ns	5,7
	<i>brx2.1</i>	2	T1480	106	*+	*+	4,2
	<i>brx3.1</i>	3	SSR111	73,9	***+	ns	9,8
	<i>brx3.2</i>	3	T0794	120	***+	**+	7,2
	<i>brx4.1</i>	4	SSR188	135,5	****+	*+	11,9
	<i>brx9.1</i>	9	T1065	116	ns	***+	8,2
	<i>brx10.1</i>	10	TG230	0	**+	ns	5,9
	<i>brx11.1</i>	11	cLEC24C3	76	**+	*+	5,1
	<i>brx11.2</i>	11	TG393	103	***+	ns	9,1
Licopene (Lyc)	<i>lyc1.1</i>	1	CT267	114	**_	ns	5,6
	<i>lyc8.1</i>	8	TG302	37	ns	**_	4,7
	<i>lyc9.1</i>	9	SSR70	42	ns	**_	5,7
	<i>lyc12.1</i>	12	SSR44	60	ns	**_	6,3
Viscosità del suc (JBOS)	<i>jbos2.1</i>	2	FW2.2	117	*_	**_	7,0
	<i>jbos4.1</i>	4	SSR310	58	****+	****+	18,1
	<i>jbos4.2</i>	4	SSR146	102	ns	**_	4,6
	<i>jbos6.1</i>	6	T507	25	****_	ns	11,7
	<i>jbos8.1</i>	8	TG302	37	**_	ns	5,7
	<i>jbos9.1</i>	9	SSR70	42	**_	ns	5,9
	<i>jbos12.1</i>	12	T800	118	**_	**_	6,4
Viscosità della passata (PBOS)	<i>pbos3.1</i>	3	SSR111	73,9	**+	*+	6,1
	<i>pbos4.1</i>	4	SSR310	58	*+	*+	4,3
	<i>pbos6.1</i>	6	T892	14	**_	ns	6,2

Tab. 11 – continua

Carattere	QTL	Crom.	Marcatore	Posizione di mappa (cM)	P	H	%PV
pH (pH)	<i>pbos10.1</i>	10	TG303	11	***+	*+	5,2
	<i>pbos11.1</i>	11	T302	89	ns	***+	8,2
	<i>pbos12.1</i>	12	T800	118	** <sub>-</sub>	** <sub>-</sub>	6,0
	<i>ph2.1</i>	2	SSR605	48,5	** <sub>-</sub>	ns	4,4
	<i>ph2.2</i>	2	SSR26	77,5	**** <sub>-</sub>	** <sub>-</sub>	14,6
	<i>ph2.3</i>	2	FW2.2	117	**** <sub>-</sub>	**** <sub>-</sub>	24,2
	<i>ph10.1</i>	10	SSR223	75	* <sub>-</sub>	* <sub>-</sub>	4,3
	<i>ph11.1</i>	11	SSR80	20	***+	ns	6,3
Acidi organici totali (TOA)	<i>toa1.1</i>	1	SSR308	121	ns	***+	4,6
	<i>toa2.1</i>	2	SSR26	77,5	ns	****+	12,9
	<i>toa2.2</i>	2	T1480	106	*+	****+	12,7
	<i>toa3.1</i>	3	TG585-cLPT2E21*	40-61	***+	***+	9,6
	<i>toa4.1</i>	4	SSR188	135,5	*+	**+	7,2
	<i>toa6.1</i>	6	T507	25	*+	**+	4,7
	<i>toa6.2</i>	6	SSR578	44	ns	****+	11,3
	<i>toa9.1</i>	9	T1617	39	ns	***+	7,7
	<i>toa9.2</i>	9	T1519	90	***+	*+	8,1
	<i>toa10.1</i>	10	SSR85	55	*+	*+	7,1
	<i>toa11.1</i>	11	TG400	57	***+	ns	6,8
Acidi totali (TA)	<i>ta1.1</i>	1	SSR222	97,5	*+	***+	5,1
	<i>ta2.1</i>	2	SSR26	77,5	**+	****+	15,0
	<i>ta2.2</i>	2	T1480	106	**+	****+	20,3
	<i>ta3.1</i>	3	TG585	40	***+	****+	10,1
	<i>ta4.1</i>	4	SSR146	102	*+	**+	5,4
	<i>ta4.2</i>	4	SSR188	135,5	**+	**+	6,1
	<i>ta6.1</i>	6	T507	25	***+	*+	4,8
	<i>ta6.2</i>	6	SSR578	44	ns	***+	7,7
	<i>ta9.1</i>	9	T1617	39	ns	****+	9,5
	<i>ta9.2</i>	9	T1065	116	****+	**+	8,7
	<i>ta10.1</i>	10	SSR85	55	**+	*+	5,8
	<i>ta10.2</i>	10	SSR223	75	*+	**+	6,2
	<i>ta11.1</i>	11	TG400	57	***+	ns	6,9

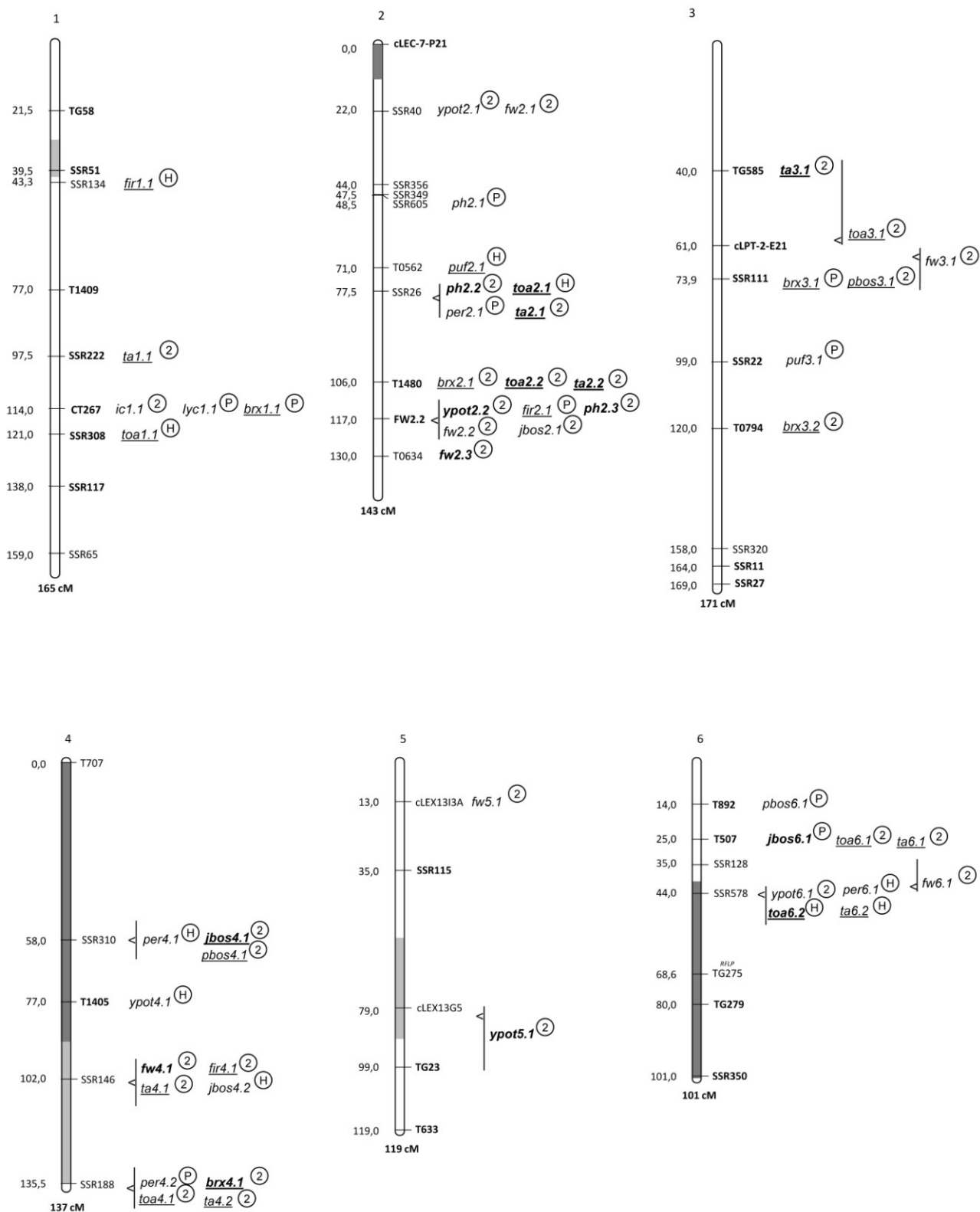
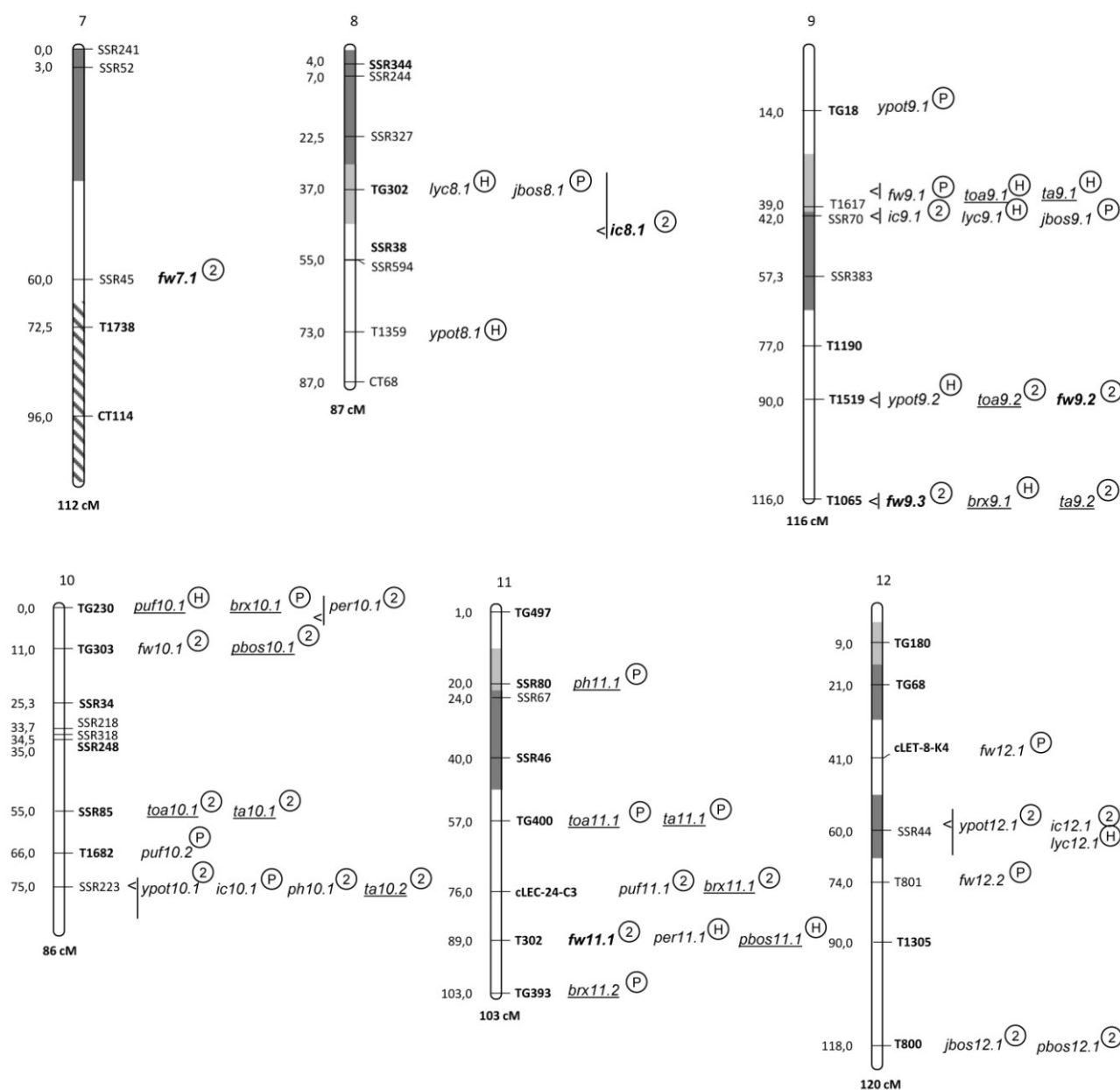


Fig. 10 - continua



**Fig. 10.** Localizzazione dei QTL significativi sulla mappa genetica del pomodoro. Le posizioni dei marcatori, in cM, sono indicate alla sinistra dei cromosomi e sono basate sulla mappa Tomato-EXPEN 2000 (<http://solgenomics.net/>). Le barre grigio chiaro e grigio scuro indicano le regioni delimitate dai marcatori con segregazione distorta verso l'allele di *S. lycopersicum*, rispettivamente a  $p < 0.001$  e  $p < 0.0001$ . Le barre tratteggiate indicano le regioni delimitate dai marcatori con segregazione distorta verso l'allele di *S. habrochaites* a  $p < 0.0001$ . I QTL identificati sono mostrati sulla destra dei cromosomi. I QTL sottolineati indicano quelli per i quali l'allele della specie selvatica determina un aumento del carattere; in grassetto sono indicati i QTL per i quali il valore di PV è  $\geq 10\%$ . (P) = QTL significativo nella località 1, CA, USA; (H) = QTL significativo nella località 2, CA, USA; (2) = QTL significativo in entrambe le località. I QTL che co-segregano sono indicati con una linea verticale, con un "<" per indicare il marcatore più significativo. QTL localizzati fra due marcatori sono indicati con una linea verticale che definisce l'intervallo fra i marcatori.

## 2.4 Discussione

### 2.4.1 Analisi di segregazione

Ventinove degli 88 marcatori (33%) utilizzati per genotipizzare le 199 piante BC<sub>2</sub> derivate dall'incrocio tra *S. lycopersicum* (TA496) e *S. habrochaites* (acc. LA1721) presentano una segregazione significativamente distorta ( $p < 0,01$ ). Per il 93% di questi loci si osserva una segregazione a favore dell'allele del parentale coltivato.

La segregazione distorta è un aspetto comune delle popolazioni interspecifiche di piante, ed è stata osservata in molti incroci interspecifici di pomodoro. Ad un dato livello di significatività, l'entità della distorsione può variare in funzione di diversi fattori quali: le relazioni filogenetiche tra i parentali dell'incrocio, il tipo di popolazione utilizzata per la mappatura (Sharma et al. 2008), la direzione dell'incrocio (Chetelat et al. 2000) e la presenza vs. l'assenza di selezione fenotipica o MAS applicata durante lo sviluppo della popolazione (Zhang et al. 2002). Sebbene non sia possibile delineare un trend generale, l'entità della distorsione è spesso maggiore in incroci fra specie filogeneticamente distanti, è generalmente maggiore in popolazioni F<sub>2</sub> rispetto a popolazioni di reincrocio ed inoltre aumenta passando dalla generazione F<sub>2</sub> alla popolazione RI da essa derivata (Paran et al. 1995; Paterson et al. 1988, 1991; de Vicente and Tanksley 1993; Grandillo e Tanksley 1996b; Bernacchi e Tanksley 1997; Chen e Foolad 1999; Chetelat et al. 2000; Saliba-Colombani et al. 2001; Zhang et al. 2002; Villalta et al. 2005; Jiménez-Gomez et al. 2007; Sharma et al. 2008).

Il verificarsi della segregazione distorta in incroci interspecifici di pomodoro è stata attribuita a varie cause incluso: la selezione gametofitica e zigotica in popolazioni segreganti, la autoincompatibilità e la incongruità unilaterale (Sharma et al. 2008).

La severa segregazione distorta osservata nella popolazione BC<sub>2</sub> di *S. habrochaites* LA1721 in corrispondenza della regione del locus *SP* può essere spiegata dalla MAS negativa esercitata durante lo sviluppo della popolazione sui genotipi sp/sp+ caratterizzati da un habitus di crescita indeterminato. Segregazione distorta per marcatori localizzati in questa stessa regione cromosomica è stata precedentemente riportata in altri incroci interspecifici di pomodoro, nei quali la selezione negativa, fenotipica o basata sull'uso di marcatori molecolari è stata utilizzata per eliminare dalla popolazione le piante a crescita indeterminata (Fulton et al. 1997, 2000; Bernacchi et al. 1998a; Pnueli et al. 1998; Zhang et al. 2002; Frary et al. 2004).

## 2.4.2 QTL condivisi in diverse popolazioni e specie selvatiche

Molti dei caratteri analizzati in questo studio per la popolazione AB di *S. habrochaites* LA1721 (SH2) sono stati analizzati negli altri cinque studi di AB-QTL condotti in pomodoro utilizzando come parentale ricorrente *S. lycopersicum* cv. E6203, e come parentale donatore una delle seguenti cinque accessioni selvatiche: *S. pimpinellifolium* LA1589 (PM1) (Tanksley *et al.* 1996), *S. arcanum* LA1708 (PV) (Fulton *et al.* 1997), *S. habrochaites* LA1777 (SHa) (Bernacchi *et al.* 1998a), *S. neorickii* LA2133 (PF) (Fulton *et al.* 2000), *S. pennellii* LA1657 (PN2) (Frary *et al.* 2004). Pertanto, per questi caratteri è stato possibile confrontare direttamente i risultati ottenuti nei sei studi AB-QTL condotti, ed identificare quei QTL che con maggiore probabilità sono conservati fra le specie. Dato che nei diversi studi le popolazioni sono state genotipizzate utilizzando diversi subset di marcatori, QTL per due o più specie selvatiche verranno definiti potenzialmente ortologhi se mappano nella stessa regione di 20 cM, con distanze determinate sulla base della mappa EXPEN 2000 (<http://solgenomics.net/>). Per il carattere TA le posizioni dei QTL sono state confrontate con quelle riportate da Fulton *et al.* (2002b), per le prime quattro popolazioni AB. Per diversi caratteri il confronto è stato esteso anche alle IL di *S. habrochaites* LA1777 analizzate nel 2009 (Di Dato 2009) (SHb09) e nell'ambito di questa tesi nel 2010 e 2011 (vedi Cap. I) (SHb10,11). Per il carattere FW il confronto è stato esteso ad un maggior numero di studi QTL (Grandillo *et al.* 1999), che includono la popolazione di IL di *S. pennellii* LA0716 (Eshed e Zamir 1995) (PN1a). Per il carattere LYC, i risultati sono stati confrontati anche con quelli descritti da Liu *et al.* (2003) per la popolazione di IL di *S. pennellii* (PN1b), mentre per i caratteri YPOT e BRX il confronto è stato esteso allo studio condotto da Eshed e Zamir (1995) (PN1a).

*Produzione potenziale* (YPOT). Questo carattere è stato misurato in modo diverso da quanto fatto nei precedenti studi di AB-QTL e nelle IL di *S. pennellii* LA716. Tuttavia, sono stati trovati QTL potenzialmente ortologhi per otto dei 10 QTL mappati nella popolazione AB di *S. habrochaites* LA1721 (SH2): *ypot2.1*, *ypot2.2*, *ypot5.1*, *ypot6.1*, *ypot8.1*, *ypot9.1*, *ypot10.1* e *ypot12.1*. Ad esempio, *ypot2.2*, il QTL con il valore di PVE più elevato (11,6%) è risultato potenzialmente ortologo ai QTL identificati nella stessa regione cromosomica nelle popolazioni AB di *S. pimpinellifolium* LA1589 (PM1) e di *S. arcanum* LA1708 (PV), e nelle IL di *S. habrochaites* LA1777 (SHb09,10,11). Anche in questi casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere. Invece, il QTL *ypot9.1* è risultato putativamente conservato con un QTL identificato nella popolazione di IL di *S. pennellii* (PN1a); tuttavia l'allele di *S. pennellii* ha determinato un effetto opposto (ovvero un aumento del YPOT) rispetto a quanto osservato nella popolazione SH2 oggetto di studio della nostra tesi. E' interessante sottolineare che sei dei 10 QTL



per YPOT mappati nella popolazione SH2 sono risultati potenzialmente ortologhi a quelli identificati nelle IL di LA1777 (SHb09,10,11).

*Peso medio del frutto (FW).* Per questo carattere sono stati identificati 15 QTL significativi, localizzati su dieci dei dodici cromosomi del pomodoro, ed in tutti i casi, l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere. Per sei QTL la percentuale di varianza fenotipica spiegata è maggiore del 10%. Confrontando le posizioni di questi QTL con i QTL mappati per lo stesso carattere negli studi sopra citati (Eshed e Zamir 1995; Grandillo *et al.* 1999; Frary *et al.* 2004b) e nelle IL di *S. habrochaites* LA1777 (SHb09,10,11), si deduce che tutti i 15 QTL identificati nella popolazione SH2 sono stati già identificati in altre popolazioni interspecifiche di pomodoro. In particolare, è interessante notare che ben 11 dei 15 QTL identificati per FW nella popolazione SH2 sono risultati potenzialmente ortologhi a quelli mappati nelle IL di *S. habrochaites* LA1777 (SHb09,10,11).

*Consistenza del frutto (FIR).* Dei tre QTL identificati per FIR nella popolazione SH2, il QTL identificato sul cromosoma 1, *fir2.1*, è risultato potenzialmente ortologo ad un QTL per FIR identificato in una posizione simile nella popolazione AB di *S. habrochaites* LA1777 (SH). Tuttavia, l'allele di LA1777 ha determinato un effetto opposto (ovvero una riduzione del carattere) rispetto a quanto osservato nella popolazione SH2 oggetto di studio della nostra tesi.

*Colore interno del frutto (IC).* Quattro dei cinque QTL mappati per IC nella popolazione SH2 sono putativamente conservati in altre popolazioni. Ad esempio, i QTL *ic1.1* e *ic10.1* sono risultati potenzialmente ortologhi a QTL identificati nella popolazione AB di *S. neorickii* (PF) ed *ic1.1* è stato mappato anche nelle IL di *S. habrochaites* LA1777 (vedi Cap. I). Tuttavia, va sottolineato che mentre gli alleli di *S. neorickii* hanno determinato un aumento di IC, quelli di *S. habrochaites* (LA1721 e LA1777) hanno portato ad una riduzione del carattere.

*Spessore del pericarpo (PER).* Uno solo dei sei QTL identificati per questo carattere, *per11.1*, è stato già mappato in un'altra popolazione, e precisamente nelle IL di *S. habrochaites* LA1777 analizzate nel 2011 nell'ambito di questa tesi.

*Scatolatura del frutto (PUF).* Tutti e cinque i QTL identificati per PUF nella popolazione SH2 sono risultati potenzialmente ortologhi a QTL mappati in altri studi. Ad esempio, *puf3.1*, *puf10.2* e *puf11.1* mostrano posizioni di mappa simili ai QTL identificati per PUF nelle IL di *S. habrochaites* LA1777 (vedi Cap. I). Il QTL mappato sul cromosoma 11, *puf11.1*, è risultato potenzialmente ortologo anche al QTL identificato nella popolazione AB di *S. neorickii* (PF); in tutti i casi, l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione della scatolatura del frutto.

*Contenuto in solidi solubili* (BRX). Quindici QTL sono stati identificati per BRX nella popolazione SH2, ed in tutti i casi l'allele di *S. habrochaites* LA1721 ha determinato un aumento del contenuto in solidi solubili. Tutti i 15 QTL sono risultati potenzialmente ortologhi a QTL mappati in altre popolazioni. Ad esempio, *brx3.1*, è stato identificato anche nelle popolazioni AB di *S. pimpinellifolium* (PM1) e *S. habrochaites* LA1777 (SH) e nella popolazione di IL di *S. pennelli* LA716 (PN1a); in tutti i casi, l'allele della specie selvatica ha determinato un aumento del carattere. I due QTL, *brx1.1* e *brx3.2* sono stati entrambi identificati anche nelle IL di *S. habrochaites* LA1777 (Di Dato 2009; vedi Cap. I). QTL putativamente conservati sono stati trovati anche nella popolazione AB di *S. arcanum* (PV) per *brx1.1* e nella popolazione PN1a per *brx3.2*.

*Licopene* (LYC). Per questo carattere sono stati identificati quattro QTL significativi. In tutti i casi l'allele della specie selvatica ha determinato una riduzione del carattere, e nessuno di essi risulta mappare in posizioni simili a QTL identificati per questo carattere in altre popolazioni.

*Viscosità del succo* (JBOS) e *viscosità della passata* (PBOS). Nella popolazione AB di *S. habrochaites* LA1721 (SH2) sono stati identificati sette QTL per JBOS e sei per PBOS. L'allele della specie selvatica ha determinato un aumento della viscosità per tutti i QTL identificati, fatta eccezione per *jbos4.1* e *pbos12.1*. Tre QTL per JBOS, *jbos4.1*, *jbos6.1* e *jbos12.1*, sono risultati co-localizzare con QTL identificati per PBOS. Il carattere viscosità è stato analizzato anche nei precedenti cinque studi di AB-QTL condotti in pomodoro, tuttavia in alcuni casi la viscosità è stata misurata come JBOS ed in altri come PBOS. Confrontando i risultati ottenuti nei vari studi, il QTL *jbos9.1* è risultato potenzialmente ortologo ad un QTL mappato per PBOS nella popolazione PV; in corrispondenza di questo locus gli alleli di entrambe le accessioni selvatiche hanno determinato un aumento della viscosità. E' comunque interessante sottolineare che diversi QTL per JBOS e/o PBOS sono risultati co-localizzare con QTL per la consistenza del frutto (FIR), identificati nella stessa popolazione o in popolazioni diverse.

*pH* (pH) e *acidi totali* (TA). Dei cinque QTL identificati per pH nella popolazione SH2, i tre QTL *ph2.1*, *ph2.2* e *ph2.3* sono risultati potenzialmente ortologhi a QTL mappati in altre popolazioni interspecifiche di pomodoro. Più specificamente, *ph2.1* è stato identificato anche nella popolazione SH, *ph2.2* nella popolazione PV, e *ph3.2* nella popolazione AB (SH) e nelle IL di *S. habrochaites* LA1777 (SHb10,11).

Per il carattere TA, nella popolazione SH2, sono stati identificati 13 QTL, ed in tutti i casi l'allele di LA1721 ha determinato un aumento dell'acidità totale. Nessuno di questi QTL è risultato potenzialmente ortologo a QTL mappati nelle prime quattro popolazioni AB (Fulton *et al.* (2002b).

Tuttavia, va sottolineato che in alcuni casi QTL per TA sono stati osservati in posizioni cromosomiche simili a quelle di QTL identificati per il carattere pH.

### 2.4.3 Co-localizzazione di QTL

Analogamente a quanto osservato in altri studi di mappatura di QTL condotti in pomodoro, ma anche in altre specie vegetali (Edwards *et al.* 1987; Tanksley *et al.* 1996; Bernacchi *et al.* 1998a; Fulton *et al.* 1997; 2000; Causse *et al.* 2002; Frary *et al.* 2004b), anche in questo studio è stato possibile osservare numerose regioni del genoma in corrispondenza delle quali i QTL per caratteri diversi co-localizzano. Il gruppo più numeroso di QTL si trova alla base del cromosoma 2, dove una regione di circa 11 cM (delimitata dai marcatori T1480 e FW2.2) è risultata influenzare otto dei 13 caratteri analizzati. Gruppi simili di QTL sono stati osservati anche sul cromosoma 6 (cinque QTL associati al marcatore SSR578), sul cromosoma 7 (sei QTL associati ad i marcatori T1617 e SSR70), e sul cromosoma 10 (cinque QTL associati ad i marcatori TG230 e TG303 che delimitano una regione di circa 11 cM). Gruppi meno numerosi di QTL sono stati identificati su tutti i cromosomi, fatta eccezione per i cromosomi 5 e 7, sui quali sono stati mappati, rispettivamente, solo due ed un QTL.

Come atteso caratteri simili o relazionati tendono a co-localizzare nel genoma. Ad esempio, nove (82%) degli 11 QTL identificati per TOA mappano nelle stesse regioni cromosomiche di QTL per il carattere TA, e tre (60%) dei cinque QTL identificati per pH co-localizzano con QTL di TA e/o TOA. Analoga co-localizzazione di QTL è stata osservata per altre combinazioni di caratteri quali JBOS/PBOS, FW/YPOT, BRX/PBOS, IC/LYC FIR/JBOS. In particolare, tre (50%) dei sei QTL identificati per PBOS mappano in posizioni simili a tre QTL di JBOS, quattro (40%) dei 10 QTL per YPOT mappano nelle stesse o in simili posizioni di QTL per FW, mentre tre (33,3%) dei 9 QTL del BRX mappano vicino a QTL per FW. I QTL identificati per IC, co-localizzano tutti con QTL per il carattere LYC; infine due (67%) dei tre QTL identificati per FIR mappano nelle stesse posizioni di QTL per JBOS.

Partendo dall'assunzione che caratteri relazionati dovrebbero avere anche QTL in comune, nel presente lavoro di tesi è stato effettuato il confronto, mediante coefficienti di correlazione, dei gruppi di QTL che influenzano caratteri diversi. Ad esempio, la co-localizzazione di QTL per i caratteri TOA, TA e pH è in accordo con l'elevata correlazione positiva osservata tra i due caratteri TOA e TA ( $r=0,90$  per la località H e  $r=0,95$  per la località P), e la buona correlazione negativa riscontrata tra i caratteri TA e pH ( $r=-0,51$  per H e  $r=-0,42$  per P). Per i due caratteri FIR e JBOS è

stata osservata una lieve correlazione negativa ( $r=-0,29$  per H e  $r=-0,25$  per P). Poiché valori bassi di Bostwick indicano elevata viscosità, la correlazione negativa indica che un aumento di viscosità è associato ad una consistenza del frutto più elevata.

Questi gruppi di QTL possono essere o il risultato di un legame casuale di più QTL, oppure la conseguenza di effetti pleiotropici di un singolo QTL che controlla due o più caratteri. Al fine di poter distinguere tra le due possibilità, è necessario una mappatura a risoluzione più elevata delle regioni cromosomiche interessate dalla co-localizzazione dei QTL (Eshed and Zamir 1995; Monforte and Tansley 2000b).

#### **2.4.4 QTL conservati nelle due località**

Tutti i 13 caratteri analizzati sono stati valutati in entrambe le località. Dei 99 QTL significativi identificati per i 13 caratteri, 55 (56%) sono risultati statisticamente significativi ( $p<0,05$ ) in entrambe le località. Questi risultati indicano che una buona parte dei QTL identificati in questa popolazione sono conservati nelle due località, il che suggerisce una bassa interazione tra QTL ed ambiente. Questi risultati sono in accordo con quelli riportati in altri studi di AB-QTL condotti in pomodoro (Tanksley *et al.* 1996; Fulton *et al.* 1997; Bernacchi *et al.* 1998a; Fulton *et al.* 2000; Frary *et al.* 2004b).

#### **2.4.5 QTL con alleli favorevoli derivanti dalla specie selvatica**

L'analisi QTL condotta utilizzando la popolazione AB di *S. habrochaites* LA1721 ha consentito l'identificazione di numerosi QTL in corrispondenza dei quali l'allele della specie selvatica ha determinato un effetto favorevole sul carattere. In totale, 47 loci (48%) corrispondenti a sette caratteri (54%), hanno presentato alleli della specie selvatica con effetto favorevole sul carattere analizzato. In questo conteggio sono stati considerati come favorevoli anche alleli che aumentano l'acidità e diminuiscono il pH. In particolare, la percentuale più elevata (pari al 100%) di alleli favorevoli di origine selvatica è stata osservata per i caratteri BRX, TOA, TO e FIR. Percentuali relativamente alte sono state riportate anche per JBOS (86%) e pH (80%). Un numero inferiore di alleli selvatici favorevoli è stato, invece, identificato per i due caratteri PUF (60%) e JBOS (33,3%). Per i caratteri YPOT, FW, IC, PER, e LYC non sono stati identificati QTL con alleli favorevoli derivanti da *S. habrochaites* LA1721.

Alcuni di questi QTL favorevoli, incluso *brx3.2*, *brx11.1*, *brx11.2*, *toa11.1*, *tall.1* e *puf11.1*, sono risultati particolarmente interessanti in quanto mappano in regioni cromosomiche che non sembrano avere effetti negativi sugli altri caratteri analizzati. Tuttavia, per poter valutare l'utilità di questi QTL per programmi di breeding assistito, sarà necessario sviluppare le IL corrispondenti, valutarle in prove di campo replicate in differenti ambienti e per un numero di caratteri maggiore.

## CONCLUSIONI

Il presente lavoro di dottorato è volto al miglioramento di importanti caratteri agronomici e qualitativi del pomodoro, attraverso l'utilizzo della biodiversità naturale presente nelle specie selvatiche di *Solanum* sect. *Lycopersicon*. Questo obiettivo rientra negli scopi generali del progetto internazionale EU-SOL “*High Quality Solanaceous crops for consumers, processors and producers by exploration of natural biodiversity*” e del progetto nazionale GenoPOM “*Laboratorio di genomica per l'innovazione e la valorizzazione della filiera pomodoro*”.

I risultati della presente tesi possono essere così riassunti:

- Sono state sviluppate quattro nuove IL di *S. habrochaites* LA1777 per i cromosomi 6 e 9 in grado di coprire parte dei rispettivi “gap”.
- L'analisi QTL condotta sulla popolazione di IL di *S. habrochaites* LA1777 (48 IL nel 2010 e 66 IL nel 2011), ha permesso di identificare, rispettivamente, 140 QTL per 15 caratteri studiati nel primo anno e 82 QTL per 13 caratteri studiati nel secondo anno.
- L'analisi QTL condotta nella popolazione AB derivata dall'incrocio *S. lycopersicum* x AB di *S. habrochaites* (acc. LA1721) (199 famiglie BC2/BC2F1) ha consentito di identificare 99 QTL per i 13 caratteri analizzati nelle due località.
- In entrambi gli studi volti all'identificazione di QTL, è stato possibile identificare loci in corrispondenza dei quali l'allele della specie selvatica ha comportato un effetto positivo sul carattere analizzato, anche nei casi in cui il fenotipo della specie selvatica era inferiore rispetto al parentale coltivato.

In conclusione, i risultati ottenuti nell'ambito di questo lavoro confermano l'utilità di utilizzare strategie di breeding molecolare quali l'“Advanced Backcross QTL” e le popolazioni di IL derivanti da incroci interspecifici per l'identificazione e l'uso di QTL favorevoli proveniente dalle specie selvatiche.

## BIBLIOGRAFIA

- Adams MD, Kelley JM, Gocayne JD. 1991. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science* 252(5013): 1651–1656
- Agrama H, Scott J. 2006. Quantitative trait loci for tomato yellow leaf curl virus and tomato mottle virus resistance in tomato. *J Amer Soc Hort Sci* 131(2): 637-645.
- Albrecht E, Chetelat R. 2009. Comparative genetic linkage map of *Solanum* sect. *Juglandifolia*: evidence of chromosomal rearrangements and overall synteny with the tomatoes and related nightshades. *Theor Appl Genet* 118: 831-847.
- Allard RW. 1988. Genetic changes associated with the evolution of useful genes between adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. *J Hered* 79: 225-238.
- Ashikari M, Matsuoka M. 2006. Identification, isolation and pyramiding of quantitative trait loci for rice breeding. *Trends Plant Sci* 11(7): 344-350.
- Asins MJ. 2002. Present and future of quantitative trait locus analysis in plant breeding. *Plant Breed* 121: 281-291.
- Atherton JG, Rudich J. 1986. The tomato crop. A scientific basis for improvement. Chapman and Hall, London, England, p. 661.
- Azanza F, Young T, Kim D, Tanksley S, Juvik J. 1994. Characterization of the effect of introgressed segments of chromosome 7 and 10 from *Lycopersicon chmielewskii* on tomato soluble solids, pH, and yield. *Theor Appl Genet* 87: 965-972.
- Bai Y, Huang C, van der Hulst R, Meijer-Dekens F, Bonnema G, Lindhout P. 2003. QTLs for tomato powdery mildew resistance (*Oidium lycopersici*) in *Lycopersicon parviflorum* GL.1601 co-localize with two qualitative powdery mildew resistance genes. *MPMI* 16(2): 169-176.
- Bai Y, Lindhout P. 2007. Domestication and breeding of tomatoes: What have we gained and what can we gain in the future? *Ann Bot* DOI:10.1093/aob/mcm150: 1-10.
- Baldwin E, Scott J, Einstein M, Malundo TMM, Carr BT, Shewfelt RL, Tandon KS. 1998. Relationship between sensory and instrumental analysis for tomato flavor. *J Amer Soc Hort Sci* 123: 906-915.
- Baldwin EA, Nisperos-Carriedo MO, Baker R, Scott JW. 1991. Quantitative analysis of flavor parameters in six Florida tomato cultivars (*Lycopersicon esculentum* Mill). *J Agric Food Chem* 39 (6): 1135–1140
- Ballester AR, Molthoff J, de Vos R, Hekkert BT, Orzaez D, Fernandez-Moreno JP, Tripodi P, Grandillo S, Martin C, Heldens J, Ykema M, Granell A, Bovy A. 2009. Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: deregulated expression of the gene encoding transcription factor *SIMYB12* leads to pink tomato fruit colour. *Plant Physiol.* 2009 Nov 11. DOI:10.1104/pp.109.147322.
- Barrero LS, Tanksley SD. 2004. Evaluating the genetic basis of multiple-locule fruit in a broad cross section of tomato cultivars. *Theor Appl Genet* 109:669-679.
- Baxter CJ, Sabar M, Quick WP, Sweetlove LJ. 2005. Comparison of changes in fruit gene expression in tomato introgression lines provides evidence of genome-wide transcriptional changes and reveals links to mapped QTLs and described traits. *J Exp Bot* 56:1591-1604
- Beecher GR. 1997. Nutrient content of tomatoes and tomato products. *Proc Soc Exp Biol Med* 218: 98-100.
- Bernacchi D, Beck-Bunn T, Emmatty D, Eshed Y, Inai S, Lopez J, Petiard V, Sayama H, Uhlig J, Zamir D, Tanksley S. 1998b. Advanced backcross QTL analysis of tomato. II. Evaluation of near-isogenic lines carrying single-donor introgressions for desirable wild QTL-alleles derived from *Lycopersicon hirsutum* and *L. pimpinellifolium*. *Theor Appl Genet* 97: 170-180, erratum 1191-1196.

- Bernacchi D, Beck-Bunn T, Eshed Y, Lopez J, Petiard V, Sayama H, Uhlig J, Zamir D, Tanksley SD. 1998a. Advanced backcross QTL analysis in tomato. I. Identification of QTLs for traits of agronomic importance from *Lycopersicon hirsutum*. Theor Appl Genet 97: 381-397.
- Bernacchi D, Tanksley SD. 1997. An interspecific backcross of *Lycopersicon esculentum* x *L. hirsutum*: linkage analysis and a QTL study of sexual compatibility factors and floral traits. Genetics 147:861-877
- Blair MW, Iriarte G, Beebe S. 2006. QTL analysis of yield traits in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean × wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. Theor Appl Genet 112: 1149-1163.
- Bohm F, Edge R, Burke M, Truscott TG. 2001. Dietary uptake of lycopene protects human cells from singlet oxygen and nitrogen dioxide – ROS components from cigarette smoke. J Photochem Photobiol 64(2-3):176-178.
- Bohn GW, Tucker CM. 1940. Studies on *Fusarium* wilt of the tomato. I. Immunity in *Lycopersicon pimpinellifolium* Mill. and its inheritance in hybrids. Mo Agri Exp Stn Res Bull 311: 82
- Botella MA, Coleman MJ, Hughes DE, Nishimura MT, Jones JD, Somerville SC. 1997. Map position of 47 *Arabidopsis* sequences with similarity to disease resistance genes. Plant J 12(5): 1197-1211
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics 32(3): 314–331.
- Brem B, Kruglyak L. 2005. The landscape of genetic complexity across 5,700 gene expression traits in yeast. PNAS 102(5): 1572-1577.
- Bretò M, Asins M, Carbonell E. 1994. Salt tolerance in *Lycopersicon* species. III. Detection of quantitative trait loci by means of molecular markers. Theor Appl Genet 88: 395-401.
- Brommonschenkel SH, Frary A, Tanksley SD. 2000. The broad-spectrum tospovirus resistance gene Sw-5 of tomato is a homolog of the root-knot nematode resistance gene Mi. Molecular Plant-Microbe Interactions 13(10): 1130-1138.
- Bucheli P, Voirol E, de la Torre R, Lopez J, Rytz A, Tanksley SD, Petiard V. 1999. Definition of nonvolatile markers for flavor of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as tools in selection and breeding. J Agric Food Chem 47: 659-664.
- Burns J, Fraser PD, Bramley PM. 2003. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. Phytochem 62(6): 939-947.
- Buttery R, Ling L. 1993. Volatile components of tomato fruits and plant parts. In R Teranishi, RG Buttery, H Sugisawa, eds, Bioactive Volatile Compounds in Plants.
- Buttery RG, Teranishi R, Flath RA, Ling LC. 1989. Fresh tomato volatiles: Composition and sensory studies, in Teranishi R, Buttery RG, Shahidi F.: Flavor Chemistry: Trends and Developments. Am. Chem. Soc., Washington D.C.: 213-222.
- Caicedo AL, Schaal BA. 2004. Population structure and phylogeography of *Solanum pimpinellifolium* inferred from a nuclear gene. Mol Ecol 13: 1871-1882
- Canady M, Ji Y, Chetelat R. 2006. Homologous recombination in *Solanum lycopersicoides* introgression lines of cultivated tomato. Genetics 174: 1775-1788.
- Castellini A. 2010. Mercato in Italia. In: “Il Pomodoro” (V. Magnifico, eds), Collana “Coltura&Cultura”, Bayer CropScience, Bologna, Italy. pp. 518-529.
- Causse M, Buret M, Robini K, Verschave P. 2003. Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences. J Food Sci 68: 342-350.
- Causse M, Chaïb J, Lecomte L, Buret M, Hospital F. 2007. Both additivity and epistasis control the genetic variation for fruit quality traits in tomato. Theor Appl Genet 115(3): 429-442.
- Causse M, Duffe P, Gomez M, Buret M, Damidaux R, Zamir D, Gur A, Chevalier C, Lemaire-Chamley M, Rothan C. 2004. A genetic map of candidate genes and QTLs involved in tomato fruit size and composition. J Exp Bot 55: 1671-1685.



- Causse M, Saliba-Colombani V, Lecomte L, Duffe P, Rousselle P, Buret M. 2002. QTL analysis of fruit quality in fresh market tomato: a few chromosome regions control the variation of sensory and instrumental traits. *J Exp Bot* 53(377): 2089-2098.
- Chaerani R, Smulders M, van der Linden C, Vosman B, Stam P, Voorrips R. 2007. QTL identification for early blight resistance (*Alternaria solani*) in a *Solanum lycopersicum* X *S. arcanum* cross. *Theor Appl Genet* 114: 439-450.
- Chagué V, Mercier J, Guenard M, de Courcel A, Vedel F. 1997. Identification of RAPD markers linked to a locus involved in quantitative resistance to TYLCV in tomato by bulked segregant analysis. *Theor Appl Genet* 95 671-677.
- Chaïb J, Lecomte L, Buret M, Causse M. 2006. Stability over genetic backgrounds, generations and years of quantitative trait locus (QTLs) for organoleptic quality in tomato. *Theor Appl Genet* 112: 934-944.
- Chen F, Foolad M, Hyman J, St Clair D, Beelman R. 1999. Mapping of QTLs for lycopene and other fruit traits in a *Lycopersicon esculentum* × *L. pimpinellifolium* cross and comparison of QTLs across tomato species. *Mol Breed* 5: 283-299.
- Chen F, Foolad M. 1999. A molecular linkage map of tomato based on a cross between *Lycopersicon esculentum* and *L. pimpinellifolium* and its comparison with other molecular maps of tomato. *Genome* 42(1): 94-103.
- Chetelat R, Meglic V, Cisneros P. 2000. A genetic map of tomato based on BC<sub>1</sub> *Lycopersicon esculentum* X *Solanum lycopersicoides* reveals overall synteny but suppressed recombination between these homeologous genomes. *Genetics* 154: 857-867.
- Chetelat R, Meglic V. 2000. Molecular mapping of chromosome segments introgressed from *Solanum lycopersicoides* into cultivated tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Theor Appl Genet* 100: 232-241.
- Chetelat RT, Ji Y. 2007. Cytogenetics and evolution. In: Razdan MK, Mattoo AK (eds) *Genetic improvement of Solanaceous crops*, vol 2: tomato. Science Publishers, Enfield NJ. pp 77-112
- Collard BCY, Mackill DJ. 2008. Marker assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil Trans R. Soc* 363: 557-572.
- Cong B, Barrero LS, Tanksley SD. 2008. Regulatory change in YABBY-like transcription factor led to evolution of extreme fruit size during tomato domestication. *Nat Genet* 40:800-804
- Damania A. 2008. History, achievements, and current status of genetic resources conservation. *Agron J* 100: 9-21.
- Danesh D, Aarons S, McGill G, Young N. 1994. Genetic dissection of oligogenic resistance to bacterial wilt in tomato. *MPMI* 7: 464-471.
- Darwin S, Knapp S, Peralta I. 2003. Taxonomy of tomatoes in the Galapagos Islands: native and introduced species *Solanum* section *Lycopersicon* (*Solanaceae*). *Syst Biodiversity* 1(1): 29-53.
- Davies J, Hobson G. 1981. The constituents of tomato fruit - The influence of environment, nutrition and genotype. *Crit Rev Food Sci Nutr* 15: 205-280.
- DeVicente M, Tanksley S. 1993. QTL Analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. *Genetics* 134 585-596.
- Di Dato F. 2009. Ancoraggio di popolazioni interspecifiche di pomodoro ad un set comune di marcatori COSII: nuovi strumenti per analisi QTL e di genetica comparativa. [Tesi di dottorato] <http://www.fedoa.unina.it/3617>.
- Doganlar S, Frary A, Ku H-M, Tanksley S. 2002. Mapping quantitative trait loci in inbred backcross lines of *Lycopersicon pimpinellifolium* (LA1589). *Genome* 45: 1189-1202.
- Doganlar S, Frary A, Tanksley SD. 2000. The genetic basis of seed-weight variation: tomato as a model system. *Theor Appl Genet* 100:1267-1273.
- Dunnett CW. 1955. A multiple-comparison procedure for comparing several treatments with a control. *J Am Stat Assoc* 50: 1096-1121

- Edwards MD, Stuber CW, Wendel JF. 1987. Molecular-marker facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution and types of gene action. *Genetics* 116:113-125
- Eshed Y, Gera G, Zamir D. 1996. A genome-wide search for wild-species alleles that increase horticultural yield of processing tomatoes. *Theor Appl Genet* 93: 877-886
- Eshed Y, Zamir D. 1994. Introgressions from *Lycopersicon pennellii* can improve the soluble solids yield of tomato hybrids. *Theor Appl Genet* 88:891-897
- Eshed Y, Zamir D. 1995. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. *Genetics* 141: 1147-1162.
- Eshed Y, Zamir D. 1996. Less-than-additive epistatic interactions of quantitative trait loci in tomato. *Genetics* 143(1807-1817).
- Falconer DS. 1989. Introduction to quantitative genetics, 3rd edn. Longman Scientific & Technical, Essex.
- FAOSTAT. 2009. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Florent LP, Wu F, Philippot M, Rigoreau M, Priyono, Zouine M, Frasse P, Bouzayen M, Broun P, Pétiard V, Tanksley SD, Crouzillat D. 2010. High resolution synteny maps allowing direct comparisons between the coffee and tomato genomes. *Tree Genetics & Genomes* DOI 10.1007/s11295-010-0272-3
- Foolad M, Chen F, Lin G. 1998a. RFLP mapping of QTLs conferring salt tolerance during germination in an interspecific cross of tomato. *Theor Appl Genet* 97: 1133-1144.
- Foolad M, Chen F, Lin G. 1998b. RFLP mapping of QTLs conferring cold tolerance during seed germination in an interspecific cross of tomato. *Mol Breeding* 4: 519-529.
- Foolad M, Chen F. 1999. RAPD markers associated with salt tolerance in an interspecific cross of tomato (*Lycopersicon esculentum* x *L. pennellii*). *Plant Cell Rep* 17: 306-312.
- Foolad M, Jones R. 1993. Mapping salt-tolerance genes in tomato (*Lycopersicon esculentum*) using trait-based marker analysis. *Theor Appl Genet* 87: 184-192.
- Foolad M, Stoltz T, Dervinis C, Rodriguez R, Jones R. 1997. Mapping QTLs conferring salt tolerance during germination in tomato by selective genotyping. *Mol Breeding* 3: 269-277.
- Foolad M. 2007. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *J Plant Genomics* DOI:101155/2007/64358.
- Foolad MR, Chen FQ. 1999. RFLP mapping of QTLs conferring salt tolerance during vegetative stage in tomato. *Theor Appl Genet* 99: 235-243.
- Foolad MR, Jones RA, Rodriguez RL 1993. RAPD markers for constructing intraspecific tomato genetic maps. *Plant Cell Rep* 12 (5): 293-297.
- Foolad MR, Zhang LP, Subbiah P. 2003. Relationships among cold, salt and drought tolerance during seed germination in tomato: inheritance and QTL mapping. *Acta Hort* 618:47-57.
- Francis DM, Kabelka E, Bell J, Franchino B, St. Clair D. 2001. Resistance to bacterial canker in tomato (*Lycopersicon hirsutum* LA407) and its progeny derived from crosses to *L. esculentum*. *Plant Dis* 85: 1171-1176.
- Frary A, Doganlar S, Frampton A, Fulton T, Uhlig J, Yates H, Tanksley S. 2003. Fine mapping of quantitative trait loci for improved fruit characteristics from *Lycopersicon chmielewskii* chromosome 1. *Genome* 46: 235-243.
- Frary A, Fritz L, Tanksley S. 2004a. A comparative study of the genetic bases of natural variation in tomato leaf, sepal, and petal morphology. *Theor Appl Genet* 109: 523-533.
- Frary A, Nesbitt T, Frary A, Grandillo S, Van der Knaap E, Cong B, Liu J, Meller J, Elber R, Alpert KB, Tanksley SD. 2000. *fw-2.2*: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. *Science* 289: 85-88.
- Frary A, Xu Y, Liu J, Mitchell S, Tedeschi E, Tanksley S. 2005. Development of a set of PCR-based anchor markers encompassing the tomato genome and evaluation of their usefulness for genetics and breeding experiments. *Theor Appl Genet* 111: 291-312.

- Frery A, Zamir D, Tanksley S. 2004b. Advanced backcross QTL analysis of a *Lycopersicon esculentum* x *L. pennellii* cross and identification of possible orthologs in the *Solanaceae*. *Theor Appl Genet* 108: 485-496.
- Fridman E, Carrari F, Liu Y, Fernie A, Zamir D. 2004. Zooming in on a quantitative trait for tomato yield using interspecific introgressions. *Science* 305: 1786-1789.
- Fridman E, Liu YS, Carmel-Goren L, Gur A, Shoshitaishvili M, Pleban T, Eshed Y, Zamir D. 2002. Two tightly linked QTLs modify tomato sugar content via different physiological pathways. *Mol Genet Genomics* 266: 821-826.
- Fulton T, Beck-Bunn T, Emmatty D, Eshed Y, Lopez J, Petiard V, Uhlig J, Zamir D, Tanksley SD. 1997. QTL analysis of an advanced backcross of *Lycopersicon peruvianum* to the cultivated tomato and comparisons with QTLs found in other wild species. *Theor Appl Genet* 95: 881-894.
- Fulton T, Bucheli E, Voirol E, López J, Pétiard V, Tanksley S. 2002b. Quantitative trait loci (QTL) affecting sugars, organic acids and other biochemical properties possibly contributing to flavor, identified in four advanced backcross populations of tomato. *Euphytica* 127: 163-177.
- Fulton T, Grandillo S, Beck-Bunn T, Fridman E, Frampton A, Lopez J, Petiard V, Uhlig J, Zamir D, Tanksley SD. 2000. Advanced backcross QTL analysis of a *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon parviflorum* cross. *Theor Appl Genet* 100: 1025-1042.
- Fulton T, van der Hoeven R, Eanetta N, Tanksley S. 2002a. Identification, analysis, and utilization of conserved ortholog set markers for comparative genomics in higher plants. *Plant Cell* 14: 1457-1467.
- Fulton TM, Chunwongse J, Tanksley SD. 1995. Microprep Protocol for Extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants. *Pl Mol Biol Rep* 13(3): 207-209.
- Gallicchio L, Boyd K, Matanoski G, Tao X, Chen L, Lam TK, Shiels M, Hammond E, Robinson KA, Caulfield LE, Herman JG, Guallar E, Alberg AJ. 2008. Carotenoids and the risk of developing lung cancer: a systematic review *Am J Clin Nutr* 88(2): 372-383.
- Garcia-Martinez S, Andreani L, Garcia-Gusano M, Geuna F, Ruiz J. 2005. Evolution of amplified length polymorphism and simple sequence repeats for tomato germplasm fingerprinting: utility for grouping closely related traditional cultivars. *Genome* 49: 648-656.
- Georgelis N, Scott J, Baldwin EA. 2006. Inheritance of high sugars from tomato accession PI 270248 and environmental variation between seasons. *J Amer Soc Hort Sci* 131(1): 41-45.
- Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. 1995. Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst* 87 (special issue): 1767-1776.
- Goldman I, Zamir D. 1995. Quantitative trait locus analysis of a recombinant inbred line population derived from a *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon cheesmanii* cross. *Theor Appl Genet* 90: 925-932.
- Goldman IL, Paran I, Zamir D. 1995. Quantitative trait locus analysis of a recombinant inbred line population derived from a *Lycopersicon esculentum* x *L. cheesmanii* cross. *Theor Appl Genet* 90:925-932.
- Gonzalo MJ, van der Knaap E. 2008. A comparative analysis into the genetic bases of morphology in tomato varieties exhibiting elongated fruit shape. *Theor Appl Genet* 116:647-656.
- Grandillo S, Chetelat RT, Knapp S, Spooner D, Peralta I, Cammareri M, Pérez O, Tripodi P, Termolino P, Chiusano ML, Ercolano, MR, Frusciante L, Monti L, Pignone D. 2011a. *Solanum* sect. *Lycopersicon*. In "Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Vegetables (C Kole ed.) Springer, Vol 5 (Vegetables): 129-215.
- Grandillo S, Ku HM, Tanksley SD. 1996. Characterization of *fs8.1*, a major QTL influencing fruit shape in tomato. *Mol Breeding* 2:251-260
- Grandillo S, Mustilli AC, Parisi M, Morelli G, Giordano I, Bowler C. 2004. Tecniche avanzate per la valutazione qualitativa del pomodoro: il caso Campania. *Agroindustria* 3(2): 151-159.
- Grandillo S, Tanksley S, Zamir D. 2008. Exploitation of natural biodiversity through genomics In: *Genomics-Assisted Crop Improvement: Vol 1: Genomics Approaches and Platforms Vol. 1* (Varshney RaT, R., ed):Springer., 121-150.

- Grandillo S, Tanksley S. 1996a. Genetic analysis of RFLPs, GATA microsatellites and RAPDs in a cross between *L. esculentum* and *L. pimpinellifolium*. *Theor Appl Genet* 92: 957-965.
- Grandillo S, Tanksley S. 1996b. QTL analysis of horticultural traits differentiating the cultivated tomato from the closely related species *Lycopersicon pimpinellifolium*. *Theor Appl Genet* 92: 935-951.
- Grandillo S, Tanksley S. 2005. Advanced backcross QTL analysis: Results and perspectives. . In: The wake of the double helix: from the green revolution to the gene revolution (Tuberosa R PR, Gale M ed):Edizioni Avenue Media, Bologna, 115-132.
- Grandillo S, Termolino P, van der Knaap E. 2011b. Molecular mapping of complex traits. In Genomics of fruit and vegetable crops. Editor C. Kole. Volume editors B.E. Liedl, J.A. Labate, A.J. Slade, S.R. Hurst, and J.R. Stommel. Science Publishers, Enfield, NH, USA (accettato per la pubblicazione).
- Grandillo S, Zamir D, Tanksley S. 1999. Genetic improvement of processing tomatoes: a 20 years perspective. *Euphytica* 110: 85-97.
- Griffiths P, Scott J. 2001. Inheritance and linkage of tomato mottle virus resistance genes derived from *Lycopersicon chilense* accession LA 1932. *J Amer Soc Hort Sci* 126: 462-467.
- Gur A, Zamir D. 2004. Unused natural variation can lift yield barriers in plant breeding. *PLOS Biology* 2: 1610-1615.
- Helentjaris T, King G, Slocum M, Siedenstrang C, Wegman S. 1985. Restriction fragment polymorphisms as probes for plant diversity and their development as tools for applied plant breeding. *Plant Mol Biol* 5:109-118
- Ho J, McCouch S, Smith M. 2002. Improvement of hybrid yield by advanced backcross QTL analysis in elite maize. *Theor Appl Genet* 105:440-448.
- Hobson GE, Bedford L. 1989. The composition of cherry tomatoes and its relation to consumer acceptability. *J. Horticultural Sci.* 64(3): 321–329.
- Holtan HE, Hake S. 2003. Quantitative trait locus analysis of leaf dissection in tomato using *Lycopersicon pennellii* segmental introgression lines. *Genetics* 165:1541-50
- Huang X, Cöster H, Ganai M, Röder M. 2003. Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 106: 1379-1389.
- Hyne V, Kearsey M. 1995. QTL analysis: further uses of 'marker regression'. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 471-476.
- Jansen R, Stam P. 1994. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136: 1447-1455.
- Ji Y, Schuster D, Scott J. 2007. *Ty-3*, a begomovirus resistance locus near the *Tomato yellow leaf curl virus* resistance locus *Ty-1* on chromosome 6 of tomato. *Mol Breeding* 20: 271-284.
- Ji Y, Scott J. 2005. Identification of RAPD markers linked to *Lycopersicon chilense* derived begomovirus resistant gene on chromosome 6 of tomato. *International Symposium on Tomato Diseases. Acta Hort* 695: 407-416.
- Jiménez-Gómez J, Alonso-Blanco C, Borja A, Anastasio G, Angosto T, Lozano R, Martínez-Zapater JM. 2007. Quantitative genetic analysis of flowering time in tomato. *Genome* 50: 303-315.
- Jones, RA, Scott SJ. 1984. Genetic potential to improve tomato flavor in commercial F1 hybrids. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109:318-321.
- Kabelka E, Franchino B, Francis D. 2002. Two loci from *Lycopersicon hirsutum* LA407 confer resistance to strains of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathol* 92: 504-510.
- Kao CHZ, Zeng B. 1997. General formulas for obtaining the MLEs and the asymptotic variance-covariance matrix in mapping for QTL. *Genetics* 152: 1203-1216.
- Kearsey M, Farquhar A. 1998. QTL analysis in plants; where are we now? *Heredity* 80: 137-142.
- Kearsey M, Pooni H. 1996. The genetical analysis of quantitative traits in the unconstrained full model, thereby taking additive traits. London.

- Krumbein A, Auerswald H. 1998. Characterization of aroma volatiles in tomatoes by sensory analyses. *Nahrung* 42: 395-399.
- Ku HM, Doganlar S, Chen KY, Tanksley SD. 1999. The genetic basis of pear-shaped tomato fruit. *Theor Appl Genet* 99: 844-850.
- Kushi LH, Lenart EB, Willet WC. 1995. Health implications of Mediterranean diets in light of contemporary knowledge. 1. Plant foods and dairy products. *Am. J. Clin. Nutr* 61: 1407 – 1415.
- Labate J, Grandillo S, Fulton T, Muños S, Caicedo A, Peralta I, Ji Y, Chetelat RT, Scott JW, Gonzalo MJ, Francis D, Yang W, van der Knaap E, Baldo AM, Smith-White B, Mueller LA, Prince JP, Blanchard NE, Storey DB, Stevens MR, Robbins MD, Wang JF, Liedl BE, O'Connell MA, Stommel JR, Aoki K, Iijima Y, Slade AJ, Hurst SR, Loeffler D, Steine MN, Vafeados D, McGuire C, Freeman C, Amen A, Goodstal J, Facciotti D, van Eck J, Causse M. 2007. Tomato. In: *Genome mapping and molecular breeding in plants: Volume 5 Vegetables*: Springer Publishing Co. NY, 1-125.
- Ladizinsky G. 1998. *Plant evolution under domestication* Kluwer Academic Publishers.
- Landegren U, Nilsson M, Kwok P-Y. 1998. Reading bits of genetic information: methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Res* 8:769-776.
- Lander E, Botstein D. 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199.
- Lecomte L, Duffé P, Buret M, Servin B, Hospital F, Causse M. 2004a. Marker-assisted introgression of 5 QTLs controlling fruit quality traits into three tomato lines revealed interactions between QTLs and genetic backgrounds. *Theor Appl Genet* 109: 658-668.
- Lecomte L, Saliba-Colombani V, Gautier A, Gomez-Jimenez MC, Duffé P, Buret M, Causse M. 2004b. Fine mapping of QTLs of chromosome 2 affecting the fruit architecture and composition of tomato. *Mol Breed* 13:1-14.
- Li JZ, Huang XQ, Heinrichs F, Ganai MW, Röder MS. 2005a. Analysis of QTLs for yield, yield components, and malting quality in a BC3-DH population of spring barley. *Theor Appl Genet* 110:356–363.
- Li Z, Fu B, Gao Y, Xu J, Ali J, Lafitte H, Jiang Y-Z, Rey JD, Vijayakumar CHM, Maghirang R, Zheng T-Q, Zhu L-H. 2005b. Genome-wide introgression lines and their use in genetic and molecular dissection of complex phenotypes in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Mol Biol* 59: 33-52.
- Linnaeus C. 1753. *Species Plantarum*, 1st edn Salvius L, Stockholm
- Lippman Z, Tanksley S. 2001. Dissecting the genetic pathway to extreme fruit size in tomato using a cross between the small-fruited wild species *Lycopersicon pimpinellifolium* and *L. esculentum* var. Giant Heirloom. *Genetics* 158: 413-422.
- Lippman ZB, Semel Y, Zamir D. 2007. An integrated view of quantitative trait variation using tomato interspecific introgression lines. *Curr Opin Genet Dev* 17:545-552
- Lippman ZB, Zamir D. 2007. Heterosis: revisiting the magic. *Trends Genet* 23: 60-66
- Liu J, Van Eck J, Cong B, Tanksley SD. 2002. A new class of regulatory genes underlying the cause of pear-shaped tomato fruit. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:13302-13306
- Liu Y, Gur A, Ronen G, Causse M, Damidaux R, Buret M, Hirschberg J, Zamir D. 2003. There is more to tomato fruit colour than candidate carotenoid genes. *Plant Biot J* 1: 195-207.
- MacBride JF. 1962. Solanaceae. In *Flora of Peru*. Field Mus Nat Hist Bot Ser 13:3-267
- Mangin B, Thoquet P, Olivier J, Grimsley N. 1999. Temporal and multiple quantitative trait loci analyses of resistance to bacterial wilt in tomato permit the resolution of linked loci. *genetics* 151 1165-1172.
- Martin GB, Brommonschenkel SH, Chunwongse J, Frary A, Ganai MW, Spivey R, Wu T, Earle ED, Tanksley SD. 1993. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. *Science* 262(5138): 1432-1436

- Mathieu S, Dal Cin V, Fei Z, Li H, Bliss P, Taylor MG, Klee HJ, Tieman DM. 2009. Flavour compounds in tomato fruits: identification of loci and potential pathways affecting volatile composition. *J Exp Bot* 60(1):325-337.
- Mazzucato A, Papa R, Bitocchi E, Mosconi P, Nanni L, Negri V, Picarella ME, Siligato F, Soressi GP, Tiranti B, Veronesi F. 2008. Genetic diversity, structure and marker-trait associations in a collection of Italian tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Theor Appl Genet* 116:657-669.
- McGlasson WB, Last JH, Shaw KJ, Meldrum SK. 1987. Influence of the non-ripening mutants rin e nor on the aroma of tomato fruit. *Hort Sci.*, 22, 632-634.
- Miller J, Tanksley S. 1990. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor Appl Genet* 80: 437-448.
- Moncada P, Martínez C, Borrero J, Chatel M, Gauch Jr H, Guimaraes E, Tohme J, McCouch SR. 2001. Quantitative trait loci for yield and yield components in an *Oryza sativa* x *O. rufipogon* BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> population evaluated in an upland environment. *Theor Appl Genet* 102: 41-52.
- Monforte A, Asins A, Carbonell E. 1997a. Salt tolerance in *Lycopersicon* species. V. Does genetic variability at quantitative trait loci affect their analysis? *Theor Appl Genet* 95 284-293.
- Monforte A, Asins A, Carbonell E. 1997b. Salt tolerance in *Lycopersicon* species. VI. Genotype-by-salinity interaction in quantitative trait loci detection: constitutive and response QTLs. *Theor Appl Genet* 95 706-713.
- Monforte A, Asins A, Carbonell E. 1999. Salt tolerance in *Lycopersicon* spp. VII. Pleiotropic action of genes controlling earliness on fruit yield. *Theor Appl Genet* 98: 593-601.
- Monforte A, Friedman E, Zamir D, Tanksley S. 2001. Comparison of a set of allelic QTL-NILs for chromosome 4 of tomato: Deductions about natural variation and implications for germplasm utilization. *Theor Appl Genet* 102: 572-590.
- Monforte A, Tanksley S. 2000a. Development of a set of near isogenic and backcross recombinant inbred lines containing most of the *Lycopersicon hirsutum* genome in a *L. esculentum* genetic background: A tool for gene mapping and gene discovery. *Genome* 43: 803-813.
- Monforte AJ, Tanksley SD. 2000b. Fine mapping of a quantitative trait locus (QTL) from *Lycopersicon hirsutum* chromosome 1 affecting fruit characteristics and agronomic traits: breaking linkage among QTLs affecting different traits and dissection of heterosis for yield. *Theor Appl Genet* 100: 471-479.
- Mueller AL, Solow TH, Taylor N, Skwarecki B, Buels R, Bins J, Lin C, Wright MH, Ahrens R, Wang Y. 2005. The SOL Genomics Network (SGN): a comparative resource for Solanaceous biology and beyond. *Plant Physiol* 138: 1310-1317
- Mueller LA, Klein-Lankhorst R, Tanksley SD, Giovannoni JJ, White R, Vrebalov J. 2009. A snapshot of the emerging tomato genome sequence. *The Plant Genome* 2: 78-92.
- Mutschler MA, Tanksley SD, Rick CM. 1987. Linkage maps of the tomato (*Lycopersicon esculentum*) Report of the Tomato Genetics Cooperative 37: 5-34.
- Narasimhamoorthy B, Gill B, Fritz A, Nelson J, Brown-Guedira G. 2006. Advanced backcross QTL analysis of a hard winter wheat x synthetic wheat population. *Theor Appl Genet* 112: 787-796.
- Nelson JC. 1997. QGENE: software for marker-based genomic analysis and breeding. *Mol Breed* 3:229-235
- Nesbitt T, Tanksley S. 2002. Comparative sequencing in the genus *Lycopersicon*: implications for the evolution of fruit size in the domestication of cultivated tomatoes. *Genetics* 162: 365-379.
- Nienhuis J, Helentjarius M, Slocum B, Ruggero B, Schaffer A. 1987. Restriction Fragment length polymorphism analysis of loci associated with insect resistance in tomato. *Crop Sci* 27: 797-803.
- Ohmori T, Murata F, Motoyoshi F. 1996. Molecular characterization of RAPD and SCAR markers linked to the *Tm-1* locus in tomato. *Theor Appl Genet* 92: 151-156.
- Osborn T, Alexander D, Fobes J. 1987. Identification of restriction fragment length polymorphisms linked to genes controlling soluble solids content in tomato fruit. *Theor Appl Genet* 73: 350-356.

- Pan Q, Liu Y, Budai-Hadrian O, Sela M, Carmel-Goren L, Zamir D, Fluhr R. 2000. Comparative genetics of nucleotide binding site-leucine rich repeat resistance gene homologues in the genomes of two dicotyledons: tomato and *Arabidopsis*. *Genetics* 155: 309-322.
- Paran I, Goldman I, Tanksley SD, Zamir D. 1995. Recombinant inbred lines for genetic mapping in tomato. *Theor Appl Genet* 90:542-548
- Paran I, Zamir D. 2003. Quantitative traits in plants: beyond the QTL. *Trends Genetics* 19: 303-306.
- Park Y, West M, St Clair D. 2004. Evolution of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Genome* 47: 510-518.
- Paterson A, Damon S, Hewitt J, Zamir D, Rabinowitch H, Lincoln S, Lander ES, Tanksley SD. 1991. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations, and environment. *Genetics* 127: 181-197.
- Paterson A, DeVerna J, Lanini B, Tanksley S. 1990. Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes, in an interspecies cross of tomato. *Genetics* 124: 795-742.
- Paterson A, Lander E, Hewitt J, Peterson S, Lincoln S, Tanksley S. 1988. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature* 335: 721-726.
- Peleman JD, van der Voort JR. 2003. Breeding by design. *Trends Plant Sci* 8: 330-334
- Peralta I, Knapp S, Spooner D. 2005. New species of wild tomatoes (*Solanum* Section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Peru. *Syst Bot* 30(2): 424-434.
- Peralta I, Spooner D. 2001. Granule-bound starchsynthase (GBSSI) gene *Phl* gene of wild tomatoes (*Solanum* L. selection *Lycopersicon* [MILL.] Wettst. Subselection *Lycopersicon*). *Am J Bot* 88(10): 1888-1902.
- Peralta I, Spooner D. 2005. Morphological characterization and relationships of wild tomatoes (*Solanum* L. sect. *Lycopersicon*). In: *Monographs in systematic botany*: Missouri Botanical Garden Press.
- Peralta IE, Spooner DM, Knapp S. 2008. Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sections *Lycopersicoides*, *Juglandifolia*, *Lycopersicon*; Solanaceae). *Syst. Bot. Monogr.* 84:1-186
- Perez de la Vega M, Saenz-de-Miera LE, Allard RW. 1994. Ecogeographical distribution and differential adaptedness of multilocus allelic associations in Spanish *Avena sativa* L. *Theor Appl Genet* 88: 56-64.
- Peters U, Leitzmann MF, Chatterjee N, Wang Y, Albanes D, Gelmann EP, Friesen MD, Riboli E, Hayes RB. 2007. Serum lycopene, other carotenoids, and prostate cancer risk: a nested case-control study in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 16: 962-968.
- Petro-Turza M. 1987. Flavour of tomato and tomato products. *Food Review International* 2: 309-351.
- Pillen K, Zacharias A, Léon J. 2003. Advanced backcross QTL analysis in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 107: 340-352.
- Pillen K, Zacharias A, Léon J. 2004. Comparative AB-QTL analysis in barley using a single exotic donor of *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*. *Theor Appl Genet* 108: 1591-1601.
- Pirazzoli C. e Palmieri A. 2010. Mercato nel mondo. In In: “Il Pomodoro” (V. Magnifico, eds), Collana “Coltura&Cultura”, Bayer CropScience, Bologna, Italy. pp. 508-517.
- Pnueli L, Carmel-Goren L, Hareven D, Gutfinger T, Alvarez J, Ganai M, Zamir D, Lifschitz E. 1998. The SELF-PRUNING gene of tomato regulates vegetative to reproductive switching of sympodial meristems and is the ortholog of CEN and TFL1
- Price A. 2006. Believe it or not, QTLs are accurate! . *Trends Plant Sci* 11: 213-216.
- Primieri Carelli B, Gerald LTS, Grazziotin FG, Echeverrigaray S. 2006. Genetic diversity among Brazilian cultivars and landraces of tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. revealed by RAPD markers. *Genetic Res Crop Evol* 53: 395–400.
- Prudent M, Causse M, Génard M, Tripodi P, Grandillo S, Bertin N. 2009. Genetic and physiological analysis of tomato fruit weight and composition: influence of carbon availability on QTL detection. *J Exp Bot* 60: 923-937.

- Rao G, Ben Chaim A, Borovsky Y, Paran I. 2003. Mapping of yield-related QTLs in pepper in an interspecific cross of *Capsicum annuum* and *C. frutescens*. Theor Appl Genet 106: 1457-1466.
- Rick C, Fobes J. 1975. Allozymes of Galapagos tomatoes - Polymorphism, geographic distribution, and affinities. Evolution 29: 443-457.
- Rick C. 1986. Potential contributions of wide crosses to improvement of processing tomatoes. Hortscience 21: 881.
- Rick CM, Chetelat RT. 1995. Utilization of related wild species for tomato improvement. Acta Hort 412:21-38
- Rick CM, Fobes JF. 1975. Allozyme variation in the cultivated tomato and closely related species. Bull Torrey Bot Club 102: 376-384.
- Rick CM. 1988. Tomato-like nightshades: affinities, autoecology, and breeders opportunities. Econ Bot 42:145-154
- Robert V, West M, Inai S, Caines A, Arntzen L, Smith JK, St.Clair DA. 2001. Marker-assisted introgression of blackmold resistance QTL alleles from wild *Lycopersicon cheesmanii* to cultivated tomato (*L. esculentum*) and evaluation of QTL phenotypic effects. Mol Breeding 8: 217-233.
- Robertson LD, Labate JA. 2007. Genetic resources of tomato (*Lycopersicon esculentum* var. *esculentum*) and wild relatives. In: Genetic improvement of Solanaceous crops, vol 1 Tomato, Razdan MK, Mattoo AK (eds), Science Publishers Inc, New Hampshire, pp 25-75
- Rozen S, Skaletsky HJ. 1997. Primer3. Code available at [http://www-genome.wi.mit.edu/genome\\_software/other/primer3.html](http://www-genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html).
- Rousseaux MC, Jones CM, Adams D, Chetelat R, Bennett A, Powel A. 2005. QTL analysis of fruit antioxidants in tomato using *Lycopersicon pennellii* introgression lines. Theor Appl Genet 111:1396-1408
- Ruhul Amin ARM, Kucuk O, Khuri FR, Shin DM. 2009. Perspectives for cancer prevention with natural compounds. J Clinical Onc 27(16): 2712-2725.
- Ruiz J.J., Alonso A., García-Martínez S., Valero M., Blasco P. and Ruiz-Bevia F. 2005a. Quantitative analysis of flavour volatiles detects differences among closely related traditional cultivars of tomato. J. Sci. Food Agric. 85: 54-60.
- Ruiz JJ, García-Martínez S, Picó B, Gao M, Quiros CF. 2005b. Genetic variability and relationship of closely related Spanish traditional cultivars of tomato as detected by SRAP and SSR markers. J Am Soc Hortic Sci 130:88-94.
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, and Ehrlich HA. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 239:487-491.
- Saliba-Colombani V, Causse M, Gervais L, Philouze J. 2000. Efficiency of RFLP, RAPD, and AFLP markers for the construction of an intraspecific map of the tomato genome. Genome 43(1): 29-40.
- Saliba-Colombani V, Causse M, Langlois D, Philouze J, Buret M. 2001. Genetic analysis of organoleptic quality in fresh market tomato. 1. Mapping QTLs for physical and chemical traits. Theor Appl Genet 102: 259-272.
- Salmeron MJ, Oldroyd GED, Rommens CMT, Scofield SR, Kim HS, Lavelle DT, Dahlbeck D, Staskawicz BJ. 1996. Tomato Prf is a member of the leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes and lies embedded within the *Pto* kinase gene cluster. Cell 86(1): 123-133.
- Salvi S, Tuberosa R. 2005. To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges. Trends in plant science 10: 297-304.
- Sandbrink J, van Ooijen J, Purimahua C, Vrielink M, Vrielink M, Verkerk R, Zabel P, Lindhout P. 1995. Localization of genes for bacterial canker resistance in *Lycopersicon peruvianum* using RFLPs. Theor Appl Genet, 90: 444-450.
- Sax K. 1923. Association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. Genetics 8: 552-560



- SAS Institute 2007. Jmp statistics and graphics guide. SAS Institute, Cary, N.C.
- Schauer N, Semel Y, Balbo I, Steinfath M, Repsilber D, Selbig J, Pleban T, Zamir D, Fernie AR. 2008. Mode of inheritance of primary metabolic traits in tomato. *Plant Cell* 20:509-523
- Schauer N, Semel Y, Balbo I, Steinfath M, Repsilber D, Selbig J, Pleban T, Zamir D, Fernie AR. 2008. Mode of inheritance of primary metabolic traits in tomato. *Plant Cell* 20:509-523
- Schauer N, Semel Y, Roessner U, Gur A, Balbo I, Carrari F, Pleban T, Perez-Melis A, Bruedigam C, Kopka J, Willmitzer L, Zamir D, Fernie AR. 2006. Comprehensive metabolic profiling and phenotyping of interspecific introgression lines for tomato improvement. *Nature Biotech* 24:447-454
- Schauer N, Zamir D, Fernie AR. 2005. Metabolic profiling of leaves and fruits of wild species tomato: a survey of the *Solanum lycopersicum* complex. *J Exp Bot* 56: 297-307.
- Semel Y, Nissenbaum J, Menda N, Zinder M, Krieger U, Issman N, Pleban T, Lippman Z, Gur A, Zamir D. 2006. Overdominant quantitative trait loci for yield and fitness in tomato. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 (35): 12981-12986
- Septiningsih E, Pratsetiyono J, Lubis E, Tai T, Tjubaryat T, Moeljopawiro S, McCouch SR. 2003b. Identification of quantitative trait loci for yield and yield components in an advanced backcross population derived from *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. *Theor Appl Genet* 107: 1419-1432.
- Septiningsih E, Trijatmiko K, Moeljopawiro S, McCouch S. 2003a. Identification of quantitative trait loci for quality in an advanced backcross population derived from *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. *Theor Appl Genet* 107: 1433-1441.
- Sharma A, Zhang L, Niño-Liu D, Ashrafi H, Foolad MR. 2008. A *Solanum lycopersicum* × *Solanum pimpinellifolium* linkage map of tomato displaying genomic locations of r-genes, RGAs, and candidate resistance/defense-response ESTs. *Int J Plant Genomics* DOI:10.1155/2008/926090
- Sinesio F, Cammareri M, Moneta E, Navez B, Peparaio M, Causse M, Causse M, Grandillo S. 2010. Sensory quality of fresh french and dutch market tomatoes: a preference mapping study with italian consumers. *J Food Sci* 75(1): S55-S67.
- Smith HH. 1937. The relation between genes affecting size and color in certain species of *Nicotiana*. *Genetics* 22:361.
- Soressi GP, Mazzucato A. 2010. Caratteristiche botaniche. In: “Il Pomodoro” (V. Magnifico, eds), Collana “Coltura&Cultura”, Bayer CropScience, Bologna, Italy. pp. 2-15.
- Spooner D, Peralta I, Knapp S. 2005. Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [*Solanum L.* section *Lycopersicon* (Mill.) Wettst.]. *Taxon* 54(1): 43-61.
- Stevens MA, Kader AA, Albright-Holton M, Algazi M. 1977. Genotypic variation for flavour and composition in fresh market tomatoes. *J. Amer Soc. Hort. Sci.* 102(5): 680–689.
- Stevens MA, Rick CM. 1986. Genetics and breeding. Atherton JG, Rudich J (eds) *The Tomato Crop: A Scientific Basis for Improvement*. Chapman and Hall, London, pp 35-109
- Stevens R, Page D, Gouble B, Garchery C, Zamir D, Causse M. 2007. Tomato fruit ascorbic acid content is linked with monodehydroascorbate reductase activity and tolerance to chilling stress. *Plant Cell Environ* 31:1086-1096
- Tadmor Y, Fridman E, Gur A, Larkov O, Lastochkin E, Ravid U, Zamir D, Lewinsohn E. 2002. Identification of malodorous, a wild species allele affecting tomato aroma that was selected against during domestication. *J Agric Food Chem* 50: 2005-2009
- Tanksley S, Ganal M, Prince J, de Vicente M, Bonierbale M, Broun P, Fulton TM, Giovannoni JJ, Grandillo S, Martin GB, Messeguer R, Miller JC, Miller L, Paterson AH, Pineda O, Riider MS, Wing RA, Wu W, Young ND. 1992. High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics* 132: 1141-1160.
- Tanksley S, Ganal M, Prince J, de Vicente M, Bonierbale M, Broun P, Fulton TM, Giovannoni JJ, Grandillo S, Martin GB, Messeguer R, Miller JC, Miller L, Paterson AH, Pineda O, Riider MS, Wing RA, Wu

- W, Young ND. 1992. High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. *Genetics* 132: 1141-1160.
- Tanksley S, Grandillo S, Fulton T, Zamir D, Eshed Y, Petiard V, Lopez J, Beck-Bunn T. 1996. Advanced backcross QTL analysis in a cross between an elite processing line of tomato and its wild relative *L. pimpinellifolium*. *Theor Appl Genet* 92: 213-224.
- Tanksley S, McCouch S. 1997. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science* 277: 1063-1066
- Tanksley S, Medina-Filho E, Rick C. 1982. Use of naturally-occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato. *Heredity* 49(1): 11-25.
- Tanksley S, Nelson J. 1996. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor Appl Genet* 92: 191-203.
- Tanksley S, Orton T. 1983. Isozymes in Plant Genetics and Breeding. In: Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- Tanksley SD. 1993a. Mapping polygenes. *Annu Rev Genet* 27: 205-233
- Tanksley SD. 1993b Linkage map of the tomato (*Lycopersicon esculentum*)(2N = 24), in Genetic Maps: Locus Maps of Complex Genomes, S. J. O'Brian, Ed., pp. 6.3-6.15, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA
- Tautz D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res* 17: 6463-6471
- Tautz D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res* 17: 6463-6471.
- Taylor IB. 1986. Biosystematics of the tomato. In: Atherton JG, Rudich J (eds) The tomato crop: a scientific basis for improvement. Chapman and Hall London, pp 1-34
- Termolino P, Fulton T, Perez O, Eannetta N, Xu Y, Tanksley SD, Grandillo S. 2010. Advanced backcross QTL analysis of a *Solanum lycopersicum* × *Solanum chilense* cross. Proc SOL2010 7th Solanaceae Conference, Dundee, Scotland, 5-9 September 2010.
- Thompson JN Jr. 1975. Quantitative variation and gene number. *Nature* 258:665-668.
- Thomson M, Tai T, McClung A, Lai X-H, Hinga M, Lobos KB, Xu Y, Martinez CP, McCouch SR. 2003. Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theor Appl Genet* 107:479-493.
- Thoquet P, Olivier J, Sperisen C, Rogowsky P, Laterrot H, Nigel G. 1996a. Quantitative Trait 1 Loci Determining Resistance to Bacterial Wilt in Tomato Cultivar Hawaii7996. *MPMI* 9: 826-836.
- Thoquet P, Olivier J, Sperisen C, Rogowsky P, Prior P, Anaïs G, Mangin B, Bazin B, Nazer R, Grimsley N. 1996b. Polygenic Resistance of Tomato Plants to Bacterial Wilt in the West Indies. *MPMI* 9 (9): 837-842.
- Tieman D, Zeigler M, Schmelz EA, Taylor MG, Bliss P, Kirst M, Klee HJ. 2006. Identification of loci affecting flavour volatile emissions in tomato fruits. *J Exp Bot* 57(4):887-896
- Tripodi P, Maurer S, Di Dato F, Al Seekh S, Frusciante L, Van Haaren MJJ, Mohammad A, Tanksley SD, Zamir D, Gebhardt C, Grandillo S. 2009. Linking a set of tomato exotic libraries and a potato mapping population with a framework of Conserved Ortholog Set II (COSII) markers. *Plant Biology* 2009, Honolulu, Hawaii (USA), (July 18-22), p.194-195
- Tripodi P. 2007. Sviluppo di una nuova serie di linee di introgressione (IL) di *Solanum habrochaites* (acc. LA1777) in *Solanum lycopersicum* mediante tecniche molecolari ed identificazione di QTL per la qualità del frutto. [Tesi di dottorato] <http://www.fedoa.unina.it/2247>.
- Truco M, Randall L, Bloom A, St.Clair D. 2000. Detection of QTLs associated with shoot wilting and root ammonium uptake under chilling temperatures in an interspecific backcross population from *Lycopersicon esculentum* × *L. hirsutum*. *Theor Appl Genet*, 101: 1082-1092.

- Vallejos C, Tanksley S. 1983. Segregation of isozyme markers and cold tolerance in an interspecific backcross of tomato. *Theor Appl Genet* 66: 241-247.
- Van der Hoeven RS, Monforte AJ, Breeden D, Tanksley SD, Steffens JC. 2000. Genetic control and evolution of sesquiterpene biosynthesis in *Lycopersicon esculentum* and *L. hirsutum*. *Plant Cell* 12: 2283-2294.
- Van der Knaap E, Tanksley SD. 2003. The making of a bell pepper-shaped tomato fruit: identification of loci controlling fruit morphology in Yellow Stuffer tomato. *Theor Appl Genet* 107:139-147.
- van Heusden A, Koornneef M, Voorrips R, Brüggemann W, Pet G, Vrielink-van Ginkel R, Chen X, Lindhout P. 1999. Three QTLs from *Lycopersicon peruvianum* confer a high level of resistance to *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. *Theor Appl Genet* 99: 1068-1074.
- van Ooijen J. 1992. Accuracy of mapping quantitative trait loci in autogamous species. *Theor Appl Genet* 84: 803-811.
- Villalta I, Reina-Sánchez A, Cuartero J, Carbonell E, Asins M. 2005. Comparative microsatellite linkage analysis and genetic structure of two populations of F<sub>6</sub> lines derived from *Lycopersicon pimpinellifolium* and *L. cheesmanii*. *Theor Appl Genet* 110: 881-894.
- Villard J, Skroch P. 1998. Genetic variation among tomato accessions from primary and secondary centers of diversity. *Crop Sci* 38: 1339-1347.
- von Korff M, Wang H, Léon J, Pillen K. 2004. Development of candidate introgression lines using an exotic barley accession (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) as donor. *Theor Appl Genet*. 109:1736-1745.
- von Korff M, Wang H, Léon J, Pillen K. 2005. AB-QTL analysis in spring barley. I. Detection of resistance genes against powdery mildew, leaf rust and scald introgressed from wild barley. *Theor Appl Genet* 111: 583-590.
- von Korff M, Wang H, Leon J, Pillen K. 2006. AB-QTL analysis in spring barley: II. Detection of favourable exotic alleles for agronomic traits introgressed from wild barley (*H. vulgare* ssp. *spontaneum*). *Theor Appl Genet* 112: 1221-1231.
- Vos P, Hogers R, Bleeker R, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Res* 23: 4407-4414.
- Wang J, Olivier J, Thoquet P, Mangin B, Sauviac L, Grimsley N. 2000. Resistance of tomato line Hawaii7996 to *Ralstonia solanacearum* Pss4 in Taiwan is controlled mainly by a major strain-specific locus. *MPMI* 13(1): 6-13.
- Weller JI, Soller M, Brody T. 1988. Linkage analysis of quantitative traits in an interspecific cross of tomato (*Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon pimpinellifolium*) by means of genetic markers. *Genetics* 118: 329-339.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res* 18: 6531-6535.
- Wu F, Eannetta N, Xu Y, Durrett R, Mazourek M, Jahn M, Tanksley S. 2009b. A COSII genetic map of the pepper genome provides a detailed picture of synteny with tomato and new insights into recent chromosome evolution in the genus *Capsicum*. *Theor Appl Genet* 118: 1279-1293.
- Wu F, Eannetta N, Xu Y, Tanksley S. 2009a. A detailed synteny map of the eggplant genome based on conserved ortholog set II (COSII) markers. *Theor Appl Genet* 118(927-935).
- Wu F, Mueller L, Crouzillat D, Petiard V, Tanksley S. 2006. Combining bioinformatics and phylogenetics to identify large sets of single copy, orthologous genes (COSII) for comparative, evolutionary and systematics studies: a test case in the Euasterid plant clade. *Genetics* 174: 1407-1420.
- Wyman AR, White R. 1980. A highly polymorphic locus in human DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* Nov 77(11): 6754-6758.
- Xiao H, Jiang N, Schaffner E, Stockinger EJ, Van der Knaap E. 2008. A retrotransposon-mediated gene duplication underlies morphological variation of tomato fruit. *Science* 319:1527-1530

- Xiao J, Li J, Grandillo S, Ahn S, Yuan L, McCouch SR, Tanksley SD. 1996. Genes from wild rice improve yield. *Nature* 384: 223-224.
- Xiao J, Li J, Grandillo S, Ahn S, Yuan L, Tanksley SD, McCouch SR. 1998. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. *Genetics* 150: 899-909.
- Xu X, Martin B, Comstock J, Vision T, Tauer CG, Zhao B, Pausch RC, Knapp S. 2008. Fine mapping a QTL for carbon isotope composition in tomato. *Theor Appl Genet* 117: 221-233.
- Xu, S, Atchley WR. 1995. A random model approach to interval mapping of QTL. *Genetics* 141: 1189-1197.
- Yang W, Miller S, Francis D, Scott J, Jones J. 2005. Mining tomato genome sequence databases for molecular markers: application to bacterial resistance and marker assisted selection. *Acta Hort* 695: 241-249.
- Yates HE, Frary A, Doganlar S, Frampton A, Eannetta NT, Uhlig J, Tanksley SD. 2004. Comparative fine mapping of fruit quality QTLs on chromosome 4 introgressions derived from two wild tomato species. *Euphytica* 135: 283-296.
- Young N. 1999. A cautiously optimistic vision for marker-assisted breeding. *Mol Breed* 5: 505-510.
- Yu Z, Wang J, Stallt R, Vallejos C. 1995. Genomic localization of tomato genes that control a hypersensitive reaction to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye. *Genetics* 141: 675-682.
- Zamir D, Tal M. 1987. Genetic analysis of sodium, potassium and chloride ion content in *Lycopersicon*. *Euphytica* 36: 187-191.
- Zamir D. 2001. Improving plant breeding with exotic genetic libraries. *Nat Rev Genet* 2:983-989
- Zeng Z. 1994. Precision Mapping of Quantitative Trait Loci. *Genetics* 136: 1457-1468.
- Zhang L, Khan A, Niño-Liu D, Foolad M. 2002. A molecular linkage map of tomato displaying chromosomal locations of resistance gene analogs based on a *Lycopersicon esculentum* × *Lycopersicon hirsutum* cross. *Genome* 45: 133-146.
- Zhang L, Lin G, Niño-Liu D, Foolad M. 2003. Mapping QTLs conferring early blight (*Alternaria solani*) resistance in a *Lycopersicon esculentum* × *L. hirsutum* cross by selective genotyping. *Mol Breeding* 12: 3-19.

## RINGRAZIAMENTI

*Desidero ringraziare tutti coloro che mi hanno accompagnato e supportato nel corso di questi anni per il raggiungimento di questo importante traguardo.*

*In particolare: la dott.ssa Silvana Grandillo per la guida e l'incoraggiamento nel corso dell'intero triennio di dottorato, ma anche e soprattutto per la sua disponibilità e per il suo impegno insostituibili; il prof. Luigi Frusciante dell'Università di Napoli Federico II per il supporto e la Guida; il dott. Pasquale Tripodi del CNR-IGV, Portici per la guida, la collaborazione e gli indispensabili e proficui consigli, fornitimi fino al completamento del lavoro di stesura della tesi; la dott.ssa Maria Cammareri e il dott. Pasquale Termolino dell'IGV, Portici per l'aiuto prezioso e la disponibilità continua nella fase di stesura della tesi; il dott. Massimo Zaccardelli ed il dott. Domenico Perrone per l'aiuto costante e la disponibilità durante lo svolgimento delle prove di campo presso l'Azienda Sperimentale di Battipaglia (SA) del CRA-Centro di Ricerca per l'Orticoltura; il dott. Italo Giordano per avermi incoraggiato ad intraprendere questo percorso di perfezionamento.*

*Ringrazio, inoltre il C.R.A. – Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, per aver finanziato la mia Borsa di dottorato.*